

NESTOR MARTINI NETO

**Isotermas de sorção de água, potencial de
armazenamento e suas relações com as taxas
respiratórias em sementes de *Caesalpinia echinata*
Lam. (pau-brasil)**

Dissertação apresentada ao Instituto de Botânica da
Secretaria do Meio Ambiente, como parte dos
requisitos exigidos para a obtenção do título de
MESTRE em BIODIVERSIDADE VEGETAL E
MEIO AMBIENTE, na Área de Concentração de
Plantas Vasculares em Análises Ambientais.

SÃO PAULO

2011

NESTOR MARTINI NETO

**Isotermas de sorção de água, potencial de
armazenamento e suas relações com as taxas
respiratórias em sementes de *Caesalpinia echinata*
Lam. (pau-brasil)**

Dissertação apresentada ao Instituto de Botânica da
Secretaria do Meio Ambiente, como parte dos
requisitos exigidos para a obtenção do título de
MESTRE em BIODIVERSIDADE VEGETAL E
MEIO AMBIENTE, na Área de Concentração de
Plantas Vasculares em Análises Ambientais.

ORIENTADOR: DR. CLAUDIO JOSÉ BARBEDO

Ficha Catalográfica elaborada pelo **NÚCLEO DE BIBLIOTECA E MEMÓRIA**

Martini Neto, Nestor

M386i Isotermas de sorção de água, potencial de armazenamento e suas relações com as taxas respiratórias em sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil) / Nestor Martini Neto -- São Paulo, 2011.
89 p. il.

Dissertação (Mestrado) -- Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, 2011
Bibliografia.

1. Sementes. 2. Pau-brasil. 3. Isotermas. I. Título

CDU: 631.53.01

“Os problemas significativos que enfrentamos não podem ser resolvidos no mesmo nível de pensamento em que estávamos quando os criamos...”

Albert Einstein

“... é preciso educar os corações.”

Dalai Lama

A Srta. Deah Martins, pelo seu companheirismo, fidelidade e paciência.

Por sempre saber colocar meus pés no chão... e tirá-los também.

Dedico

Agradecimentos

A Deus, pelo dom da minha vida e pela certeza de me sentir sempre apto a tentar de novo, mesmo quando erro.

Aos meus pais, que apesar de não conhecerem a fundo todos os números e gráficos desta dissertação, sabem que isto é resultado de uma educação conquistada principalmente por eles, a base de muitos anos de trabalho duro; e ao meu irmão, que divide comigo este privilégio.

Ao meu orientador e amigo, Dr. Claudio José Barbedo, pela sua orientação, conselhos, amizade, piadas, trocadilhos e principalmente pelo seu exemplo.

Aos meus grandes amigos, João Paulo, Juliana, Talita, Márcio, Cibele, Débora, Carmem e Oda, por dividirem comigo um pouco de suas vidas.

Aos amigos que já passaram por esse laboratório, Moacir, Igor, Simone, Cristina, Paulo, Molina, Carol, Jailma, Liliana, Simone, Kate, Rodrigo, Sueli e Denise, pelo bom trabalho que realizaram, tornando possível, a realização deste.

Agradecimento especial a Edmir Vicente Lamarca, pela valiosa ajuda na reta final da dissertação e por sua contribuição na discussão dos dados de condutividade elétrica.

Aos pesquisadores, Dr. Danilo Centeno, Dra. Rita de Cássia e Dr. Nelson dos Santos, pela ajuda na discussão de resultados e conceitos.

Aos funcionários do núcleo de pesquisa em sementes, Marina, José Marcos, Lilian, Valdir, Valdete, Mônica, Vera e Adriana.

Ao conselho da pós-graduação, e seus funcionários, Marcinha, Antonio e Elvis e ao

Ao Sr. Luiz Salviani e a todos os funcionários da fazenda Santa Carolina, pela atenção dispensada e autorização para a coleta de sementes.

Aos funcionários da Reserva Biológica e Estação Experimental de Moji-Guaçu pela ajuda nas coletas de sementes.

Ao CNPq pela bolsa de mestrado e pelo auxílio financeiro no Processo 481484/2007-8 e 477640/2009-5 e a FAPESP, pelo auxílio financeiro do projeto temático Processo 2005/04139-7.

A todos aqueles pesquisadores, pós-graduandos, estagiários e entusiastas que dedicam ou dedicaram parte da suas vidas a estudar esta espécie, que a tantos anos tem nos fascinado.

E finalmente, a todos os amigos, músicos e familiares, que não contribuíram diretamente para a realização deste trabalho, mas foram essenciais na minha formação pessoal.

Índice

1. Introdução geral	1
2. Capítulo 1. Avaliação da deterioração de sementes de pau-brasil pelo teste de condutividade elétrica	4
3. Resumo.....	6
4. Abstract	6
5. Introdução	7
6. Material e Métodos	9
7. Resultados e Discussão	12
8. Conclusões	21
9. Agradecimentos	21
10. Referências Bibliográficas	22
11. Capítulo 2. Utilização de soluções salinas saturadas para obtenção de isothermas de sorção de água de sementes de <i>Caesalpinia echinata</i> Lam. (pau-brasil).....	27
12. Resumo.....	28
13. Abstract	29
14. Introdução	30
15. Material e Métodos	31

16. Resultados e Discussão	34
17. Conclusões	40
18.Referências Bibliográficas	41
19. Capítulo 3. Potencial de armazenamento de sementes de <i>Caesalpinia echinata</i> Lam. em temperatura ambiente	44
20. Resumo.....	45
21. Abstract	46
22. Introdução	47
23. Material e Métodos	51
24. Resultados e Discussão	55
24. Conclusões	71
25. Referências Bibliográficas	72
26. Conclusões Gerais.....	75
27. Referências Bibliográficas da Introdução Geral	76
28. Resumo.....	79
29. Abstract	80

Introdução Geral

A Mata Atlântica, que juntamente com a Amazônia compõe mais de 50% de todas as espécies brasileiras, é o ecossistema mais ameaçado do Brasil (Pilatti *et al.* 2010), devido à grande ocupação e exploração antrópica, restando hoje aproximadamente 7% de sua área original (Fundação SOS Mata Atlântica e INPE 2001). Sendo assim, há necessidade de preservação dos recursos genéticos, que pode ser obtida baseando-se em duas estratégias de conservação. Na conservação *in situ* o material genético é mantido por meio de plantas vivas em seu habitat natural e, na conservação *ex situ*, este material é mantido como pólen, cultura de tecidos, plantas vivas e sementes, conservados em condições artificiais (Botanic Gardens Conservation International 2001).

Diversos trabalhos têm sido realizados buscando-se metodologia para conservação *ex situ*, visando ao aumento da diversidade e distribuição de bancos de germoplasma. Os objetivos envolvem não apenas a exploração do potencial econômico dos insumos florestais mas, também, a preservação de espécies ameaçadas de extinção, principalmente aquelas que se apresentam escassez de remanescentes naturais (Pilatti *et al.* 2010).

Considerada segura e economicamente viável (Carvalho e Nakagawa 2000), a conservação de sementes é uma importante ferramenta de conservação *ex situ*, isto devido principalmente à capacidade de algumas sementes de manterem-se viáveis em condições secas (Alpert e Oliver 2002). Essa característica permite que possam ser conservadas durante muito tempo, devido à diminuição de seu metabolismo, diminuindo as reações de deterioração (Marcos Filho 2005) e permitindo que possam sobreviver durante décadas (Ellis *et al.* 2006), séculos (Brown 2001) e até mesmo milênios (Sallon *et al.* 2008).

O pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.), também denominado ibirapitanga (do tupi *ybyrapytanga*, que significa madeira rosada ou avermelhada), foi intensamente explorado no início da colonização brasileira, sendo o primeiro recurso natural explorado por Portugal após a

colonização (Rocha *et al.* 2007). Essa exploração foi realizada para extração de corante vermelho pois a brasilina, que confere a cor alaranjada à madeira de pau-brasil, quando exposta ao ar se oxida e assume a cor avermelhada, formando a brasileína (Alves *et al.* 2008a).

A população natural de *C. echinata*, inicialmente abrangendo os estados do Rio de Janeiro, Espírito Santo, Bahia, Sergipe, Alagoas, Pernambuco, Paraíba, e Rio Grande do Norte, atualmente encontra-se restrita a poucos remanescentes, principalmente localizados em unidades de conservação (Rocha 2010). Além disso, a espécie encontra-se incluída na lista de espécies em risco de extinção (Rocha e Barbedo 2008; Abenspreng-Traun 2009; Pilatti *et al.* 2010).

Culturalmente e historicamente, a exploração do pau-brasil teve grande expressividade e foi provavelmente a responsável pelo nome que foi dado ao nosso país, o Brasil, que parece ser o único país cujo nome foi escolhido baseando-se em uma planta (Rocha *et al.* 2007). Atualmente, a madeira dessa espécie está bastante valorizada por não encontrar similar qualidade para confecção de arcos de instrumentos musicais (Longhi 2010; Alves *et al.* 2008b). Além disso, vem sendo também muito procurada pelo seu alto potencial ornamental (Rocha e Simabukuro 2008) e farmacológico (Araújo e Cruz-Silva 2008).

Contudo, há ainda carência de suficiente informação científica sobre a espécie em áreas estratégicas, como a fisiologia e tecnologia de suas sementes. Estas ainda apresentam dificuldade para conservação (Aguiar & Barbosa 1985). As sementes de pau-brasil apresentam comportamento ortodoxo, podendo manter a viabilidade por até 18 meses quando armazenadas a 7°C com cerca de 0,1g H₂O/g MS (Barbedo *et al.* 2002) e 24 meses em temperaturas de congelamento (-5 a -18°C) (Hellmann *et al.* 2006). No entanto, os estudos ainda são inconclusivos no que diz respeito ao armazenamento destas em temperatura ambiente, impedindo o uso dessa alternativa de baixo custo e facilidade de aplicação (Chai *et al.* 1998).

Um dos grandes objetivos em estudos referentes ao armazenamento de sementes é a possibilidade de controle da perda de água, devido a sua participação como veículo de transporte e mobilização de substâncias nas células, tanto as necessárias ao metabolismo celular, como também aquelas de consequência da deterioração, como radicais livres. A quantidade de água na semente é intrinsecamente relacionada à velocidade de deterioração, ativando o metabolismo respiratório quando em alta quantidade e causando reações deletérias quando retirada em excesso (Lamarca 2009).

Portanto, a definição do teor de água ideal para o armazenamento das sementes de *C. echinata* e o conhecimento dos efeitos da deterioração durante os primeiros momentos do seu armazenamento são de fundamental importância na busca da preservação da espécie sendo, além disso, importante na compreensão dos mecanismos da deterioração em sementes tolerantes à dessecação.

Este trabalho teve por objetivo estabelecer relações entre os limites de tolerância a dessecação e o potencial de armazenamento de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. em temperatura ambiente, buscando analisar as primeiras alterações causadas nas sementes pela deterioração. Para isso, torna-se necessário o desenvolvimento de metodologia para a condução do teste de condutividade elétrica, importante ferramenta de monitoramento das alterações na seletividade do sistema de membranas, bem como o aprimoramento e aplicação do uso de soluções salinas saturadas, para estabelecimento de valores confiáveis do teor de água das sementes em equilíbrio com o ambiente.

CAPÍTULO 1

AVALIAÇÃO DA DETERIORAÇÃO DE SEMENTES DE PAU-BRASIL PELO TESTE DE CONDUTIVIDADE ELÉTRICA

Artigo submetido no periódico “Revista Brasileira de Sementes” em Junho de 2011, registro de submissão nº 368.

(A formatação do texto a seguir, segue as normas para publicação do periódico acima mencionado)

Título resumido: Condutividade elétrica para sementes de pau-brasil

AVALIAÇÃO DA DETERIORAÇÃO DE SEMENTES DE PAU-BRASIL PELO TESTE DE CONDUTIVIDADE ELÉTRICA¹

NESTOR MARTINI NETO², EDMIR VICENTE LAMARCA³, CLAUDIO JOSÉ
BARBEDO⁴

¹ Parte da Dissertação de Mestrado do primeiro autor apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente do Instituto de Botânica (IBt), SP. Apoio financeiro: CNPq (Processos 477640/2009-5 e 308045/2007-6) e FAPESP (Processo 2005/04139-7).

² Biólogo, Pós-Graduando do Núcleo de Pesquisa em Sementes, IBt, Av. Miguel Stéfano 3687, 04301-012 São Paulo, SP, n.martinineto@gmail.com.

³ Biólogo, MSc., Pós-Graduando do Núcleo de Pesquisa em Sementes, IBt, lamarcabio@ig.com.br.

⁴ Eng. Agr., Dr, Núcleo de Pesquisa em Sementes, IBt, claudio.barbedo@pesquisador.cnpq.br, bolsista CNPq. Autor para correspondência.

RESUMO - O teste de condutividade elétrica baseia-se na quantidade de eletrólitos liberados no meio pelas sementes quando embebidas em água, assumindo-se que sementes com menor vigor demoram mais tempo para o restabelecimento da integridade das membranas celulares. Este teste apresenta resultados em tempo muito menor do que o gasto com testes de germinação mas, devido à quantidade de variáveis envolvidas, sua metodologia deve ser ajustada para a espécie de interesse. Neste trabalho visou-se a obter metodologia adequada do teste de condutividade elétrica para analisar o grau de deterioração de sementes de pau-brasil. Sementes com diferentes níveis de deterioração foram analisadas quanto a períodos de embebição de sementes íntegras e, também, de embriões excisados, anteriores às leituras da condutividade da solução. Também foi analisada a substituição da solução de embebição por água pura, após as primeiras 1, 3 e 6 horas de imersão. Os resultados demonstraram que o teste de condutividade elétrica apresenta potencial para diagnóstico de sementes de pau-brasil com diferentes níveis de deterioração, mas necessita ajustes metodológicos, deve ser realizado com embriões excisados e, ainda, que a troca da solução de embebição por água pura, após terceira hora de imersão das sementes, apresenta potencial para o correto diagnóstico do nível de deterioração das sementes.

Termos para indexação: *Caesalpinia echinata* Lam., leguminosa, teste rápido, vigor

EVALUATION OF BRAZILWOOD SEED DETERIORATION BY ELECTRICAL CONDUCTIVITY TEST

ABSTRACT - The electric conductivity test is based on the amount of electrolytes released by seeds when soaked in water, assuming that lower vigor seeds take more time to restore the cell membranes integrity. This test provides results in a much shorter time than germination tests. However, since there are lots of variables involved in this test, its methodology should be adjusted to each species. This work aimed to obtain the appropriate methodology for the conductivity test to analyze the degree of deterioration of brazilwood seeds. Whole seeds with different levels of

deterioration, as well as their excised embryos, were analyzed as for different periods of imbibition. The replacement of the soaking solution by pure water after 1, 3 and 6 hours of immersion was also analysed. The results showed that the electrical conductivity test has potential for diagnosis of brazilwood seed deterioration, but methodological adjustments are necessary. At the moment, the test should be done with excised embryos with replacement of the soaking solution by pure water after the third hour of imbibition.

Index Terms: *Caesalpinia echinata* Lam., leguminous, quick test, vigor

INTRODUÇÃO

Caesalpinia echinata Lam. (pau-brasil), espécie de grande importância econômica e histórica para o Brasil, foi intensamente explorada no início da colonização brasileira, sendo o primeiro recurso natural explorado pelos descobridores portugueses (Rocha et al., 2007). Essa espécie teve sua população reduzida concomitantemente à redução da área da própria Mata Atlântica e, atualmente, ainda é muito procurada devido à sua madeira que não encontra similar qualidade para confecção de arcos de instrumentos musicais (Figueiredo-Ribeiro et al., 2008; Longui et al., 2010). A espécie continua presente nas listas das mais ameaçadas de extinção, seja pela falta de programas de conservação, seja pela falta de fiscalização e controle do comércio, inclusive o ilegal (Abenspreng-Traun, 2009; Pillati et al., 2011). O potencial ornamental do pau-brasil e a simbologia que carrega como árvore nacional permitiram que a espécie fosse amplamente utilizada em projetos paisagísticos (Rocha e Barbedo, 2008), multiplicando o número de indivíduos em áreas públicas e privadas. Contudo, a conservação não se resume a manter exemplares vivos, mas envolve também a manutenção de ampla base genética, por meio da preservação de populações naturais (conservação *in situ*) e da manutenção de bancos de germoplasma (conservação *ex situ*). No caso do pau-brasil, cujos remanescentes naturais são escassos, o banco de germoplasma

utilizando-se sementes assume papel fundamental (Rocha, 2010; Pillati et al., 2011).

As sementes de pau-brasil são tolerantes à dessecação, mas se conservam por apenas três meses, a 25 °C, até 18 meses, a 7 °C (Barbedo et al., 2002) e até 2 anos, a -18 °C (Hellmann et al., 2006). Embora se tenha demonstrado a rápida deterioração dessas sementes quando não congeladas, os estudos são inconclusivos quanto às causas dessa rápida perda de viabilidade. Para o melhor conhecimento dessas causas, é fundamental que se analisem as alterações físicas e fisiológicas que ocorrem durante a deterioração. A desestruturação do sistema de membranas, causada principalmente por grupos químicos de alta reatividade e que recebem o nome de radicais livres (Møller et al., 2007), parece estar entre as causas iniciais, decorrendo em perda da capacidade de produção de plântulas normais, da própria germinação e da morte da semente (Lamarca, 2009).

Portanto, embora o teste de germinação seja o procedimento oficial para a aprovação de lotes de sementes para a comercialização, para a determinação do nível de deterioração das sementes nem sempre revela diferenças importantes (Carvalho e Nakagawa, 2000), sendo necessária a utilização de ferramentas como os testes de vigor (Dias et al., 2006). Além disso, os testes de germinação normalmente exigem dias para o correto diagnóstico dos lotes e testes com respostas mais rápidas podem ser necessários para a definição do destino desses lotes. O principal desafio das pesquisas sobre testes de vigor e testes rápidos está na identificação de parâmetros relacionados à deterioração das sementes que precedem a perda da capacidade germinativa, detectando alterações no sistema de membranas, na atividades enzimáticas e na redução dos mecanismos energéticos (Lamarca et al., 2009).

Visando à avaliação da integridade do sistema de membranas das sementes durante a embebição, o teste de condutividade elétrica baseia-se na quantidade de eletrólitos liberados no meio pelas sementes quando embebidas em água, assumindo-se que sementes com menor vigor demoram mais tempo para o restabelecimento da integridade das membranas celulares durante a embebição e, conseqüentemente, liberam maior quantidade de eletrólitos (Marcos Filho, 2005;

Cheng et al., 2005). Este teste tem sido utilizado principalmente em sementes de espécies cultivadas (Rodrigues et al., 2006; Fessel et al., 2000) e em algumas florestais como *Eugenia brasiliensis* Lam. (Grumixama - Myrtaceae) (Kohama et al., 2006), *Chrorisia speciosa* St. Hil. (Paineira - Bombacaceae) (Fanti e Perez, 2005), *Dalbergia nigra* (Vell.) Fr. All. Ex Benth. (Jacarandá-da-Bahia - Fabaceae) (Marques et al., 2002) e *Inga uruguensis* Hook & Arn. (Ingá-banana – Fabaceae) (Barbedo e Cicero, 1998). No entanto, nem sempre o teste de condutividade elétrica apresenta resultados satisfatórios na separação de lotes (Gonzales et al., 2009; Panobianco et al., 2007; Carvalho e Novembre, 2011) tanto pelo fator genotípico de cada espécie, como também por fatores físicos que podem influenciar no resultado do teste como grau de hidratação das sementes, temperatura de embebição, tamanho das sementes ou presença de sementes danificadas (Barros e Marcos Filho, 1997). Até mesmo a qualidade da água utilizada para a embebição das sementes pode interferir nos resultados (Gaspar e Nakagawa, 2002). Devido a esta quantidade de variáveis, para que o teste apresente resultados confiáveis e satisfatórios, o procedimento deve ser adequado especificamente para a espécie de interesse.

Além de possibilitar maior rapidez nas tomadas de decisão, o teste de condutividade elétrica pode fornecer resultados que reflitam os primeiros eventos relacionados à deterioração, que não são normalmente observados na obtenção de plântulas normais no teste de germinação, o que é de extrema importância em estudos relacionados ao armazenamento de sementes. Sendo assim, este trabalho visou a obter metodologia adequada do teste de condutividade elétrica para analisar o grau de deterioração de sementes de pau-brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal: as sementes foram coletadas após dispersão natural, na Fazenda Santa Carolina, no município de Jaú, SP (48°50' W 22°19' S) e na Reserva Biológica e Estação Experimental de Mogi-Guaçu, em Mogi-Guaçu, SP (47°08' W, 22°15' S) nos anos de 2007 e 2008. As sementes apresentavam-se intactas, com coloração verde-parda a castanho-clara, tegumento liso,

com manchas púrpuras, características de sementes maduras (Borges et al. 2005). Devido aos resultados obtidos nos testes de caracterização inicial, as sementes coletadas em Mogi-Guaçu no ano de 2007, foram denominadas Alto Vigor de Mogi-Guaçu (AVMG), enquanto que as sementes coletadas no ano de 2008, foram denominadas Médio Vigor de Mogi-Guaçu (MVMG). Uma amostra de sementes dispersas sobre o solo também foi coletada, apresentando sinais típicos de absorção de umidade do ambiente, como tegumento rugoso e quebradiço, indicativos de que a semente havia sido dispersa há aproximadamente 2 dias. Estas foram denominadas Baixo Vigor de Mogi-Guaçu (BVMG). As sementes coletadas em Jaú foram denominadas Alto Vigor de Jaú (AVJ). Todas as sementes foram levadas ao Laboratório de Sementes do Instituto de Botânica e, após retirada de amostra para caracterizações iniciais (teor de água, germinação e vigor, conforme descrito abaixo), foram secas em estufa até aproximadamente 10% (base úmida) e armazenadas em freezer a -18 °C (Hellmann et al. 2006) até o início dos experimentos.

Determinações físicas e fisiológicas: o teor de água foi determinado gravimetricamente pelo método da estufa a 103 °C por 17 horas, sendo os resultados apresentados em base úmida (Brasil, 1992).

Os testes de germinação foram conduzidos em sala de germinação, em temperatura constante de 25 ± 1 °C, com $95 \pm 5\%$ de umidade relativa, com luz contínua. As sementes foram colocadas em rolo de papel germitest previamente umedecido até a saturação, sem excesso, com duas folhas para base e uma para cobertura (Mello e Barbedo, 2007). As avaliações foram realizadas a cada dois dias, sendo registradas as sementes que emitiram raiz primária com mais de 1 cm, utilizadas para o cálculo de sementes germináveis e as que apresentaram capacidade de produção de plântulas normais, utilizadas para o cálculo de germinação. Também foi calculado o índice de velocidade de germinação (IVG), segundo fórmula de Maguire (1962).

Para avaliação da condutividade elétrica, amostras de 10 sementes foram acondicionadas em recipientes plásticos e embebidas em 75 ml de água deionizada, por diferentes períodos. Após os

períodos de permanência na solução, foram avaliadas por meio de condutivímetro de bancada para soluções aquosas, modelo Marconi CA150 (Marconi, Piracicaba), com medidor tipo caneta e faixa de leitura de 0 a 20 mS.

Obtenção de sementes com diferentes níveis de deterioração: visando à obtenção de diferentes níveis de deterioração a serem comparadas pelo teste de condutividade elétrica, as sementes foram submetidas ao envelhecimento acelerado (EA) por diferentes períodos, em temperatura de 42 °C, dentro de caixas do tipo gerbox, sobre tela de aço inox e 40 ml de água destilada no fundo, evitando-se o contato direto da água com as sementes (Marcos Filho, 1994).

As sementes de AVMG e BVMG foram submetidas ao EA por 12 horas, já as de MVMG foram submetidas ao EA por 6, 12 e 18 horas e as de AVJ por 6 e 9 horas. Dessa forma foram obtidos os tratamentos AVMG12, BVMG12, MVMG6, MVMG12, MVMG18, AVJ6 e AVJ9, além das sementes não submetidas a EA, AVMG, MVMG, BVMG e AVJ.

Condutividade elétrica de sementes ao longo das primeiras 24 horas de embebição: sementes de AVMG, AVMG12, BVMG e BVMG12 foram submetidos a 10, 30, 60, 90, 120, 180, 360, 720 e 1440 minutos de embebição para, a seguir, serem avaliadas as condutividades de suas soluções, conforme descrito anteriormente.

Condutividade elétrica de sementes inteiras e de embriões por diferentes períodos de embebição: visando a verificar a influência da manutenção de tegumento nas sementes, quando submetidas ao teste de condutividade elétrica, as sementes dos tratamentos MVMG, MVMG6, MVMG12 e MVMG18 foram divididas em dois grupos, num dos quais se removeu manualmente o tegumento, permanecendo apenas o embrião. A condutividade elétrica da solução foi então avaliada, para sementes com ou sem tegumento, após 12, 24, 48 e 72 horas de embebição.

Condutividade elétrica de embriões ao longo das primeiras 24 horas de embebição e após troca da solução de embebição: embriões excisados de sementes de AVJ, AVJ6 e AVJ9 foram submetidos a 5, 10, 15, 60, 180, 360, 540 e 1440 minutos de embebição para, a seguir, serem

avaliadas as condutividades de suas soluções, conforme descrito anteriormente. Para verificar a influência de uma troca da solução de embebição, parte desse embriões foi removida das soluções após 1, 3 e 6 horas e imersa em água pura, para continuar a embebição até totalizarem 9 e 24 horas de embebição.

Delineamento experimental e análise estatística: o delineamento experimental utilizado para todos os experimentos foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4x9 (níveis de deterioração x períodos de embebição), 4x2x4 (níveis de deterioração x presença de tegumento x períodos de embebição) e 3x4x2 (níveis de deterioração x períodos até substituição da solução x período total de embebição), com 3 repetições. Os resultados foram submetidos a análise de variância ao nível de 5% e as médias foram comparadas entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% (Santana e Ranal, 2004).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A coleta de sementes em diferentes locais e sob diferentes condições, submetidas a períodos distintos de envelhecimento acelerado, permitiram agrupá-las em diferentes categorias, conforme demonstrado na Tabela 1. O envelhecimento acelerado, analisado dentro dos agrupamentos AVMG, MVMG, BVMG e AVJ, ocasionou perda gradativa da capacidade germinativa (sementes germináveis) e da produção de plântulas normais (germinação), permitindo a composição de sementes com evidentes níveis distintos de deterioração, necessários para a avaliação das metodologias de aplicação do teste de condutividade elétrica.

Condutividade elétrica ao longo das primeiras 24 horas de embebição: A análise de variância não apresentou interação significativa entre períodos de embebição e níveis de deterioração das sementes. Portanto, para as sementes com os quatro níveis de deterioração utilizadas neste experimento (AVMG, AVMG12, BVMG e BVMG12), o momento no qual se avaliou a condutividade elétrica da solução diferenciou os mesmos materiais, ou seja, AVMG de BVMG e este de BVMG12 (Tabela 2). Da mesma forma, qualquer dos lotes analisados apresentou

a mesma evolução na liberação de eletrólitos para a solução, de forma crescente e contínua até as 24 horas nas quais as sementes permaneceram imersas. Comparando-se as diferenças observadas nos valores de condutividade elétrica (Tabela 2) com as obtidas no teste de germinação (Tabela 1) nota-se o potencial de utilização daquele para estimativa da qualidade fisiológica das sementes de pau-brasil, uma vez que a condutividade elétrica acompanhou as mudanças nos valores de sementes germináveis, germinação e IVG.

TABELA 1. Valores obtidos para teor de água (imediatamente após os períodos de envelhecimento acelerado), sementes germináveis (protrusão da raiz primária), germinação (plântulas normais) e índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de *Caesalpinia echinata* de diferentes procedências e épocas (AVMG e BVMG: Mogi-Guaçu em 2007; MVMG: Mogi-Guaçu em 2008; AVJ: Jaú) e submetidas a diferentes períodos de envelhecimento acelerado.

NÍVEIS DE DETERIORAÇÃO	TEOR DE ÁGUA (%)	SEMENTES GERMINÁVEIS (%)	GERMINAÇÃO (%)	IVG
AVMG	10,8	71 ab	49 a	5,43 a
AVMG12	12,4	55 bc	29 ab	3,12 bcd
MVMG	12,5	50 bc	30 ab	3,47 bc
MVMG6	14,9	45 bcd	35 ab	3,90 ab
MVMG12	17,0	20 d	12 b	1,60 de
MVMG18	19,8	18 d	7 b	1,57 de
BVMG	10,8	42 cd	22 ab	2,12 cde
BVMG12	12,2	33 cd	9 b	1,73 de
AVJ	11,2	86 a	27 ab	2,04 cde
AVJ6	14,7	46 bcd	13 b	1,07 e
AVJ9	15,0	43 cd	13 b	1,13 e
CV (%)		19,75	32,58	21,65

Os valores de condutividade elétrica durante as primeiras 24 horas de imersão demonstraram, também, que as sementes de *C. echinata* liberam grande quantidade de eletrólitos já nos primeiros 30 minutos da embebição, atingindo cerca de um terço dos valores finais (Tabela 2). Além disso, comparando-se com outras espécies esses valores são bastante elevados; por exemplo, em sementes de outras leguminosas, os valores obtidos nos primeiros 10 minutos (50 a $77 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$, Tabela 2), em sementes de pau-brasil, seriam equivalentes aos relatados após 24 horas de embebição para sementes de soja (Barros e Marcos Filho, 1997), ingá (Barbedo e Cicero, 1998) e jacarandá-da-Bahia (Marques et al., 2002). A grande quantidade de eletrólitos liberados nas primeiras horas de embebição pode ser relacionada ao processo de reorganização das membranas, que voltam a apresentar sua característica semipermeável após as primeiras horas de embebição, caracterizada como fase I da germinação (Bewley e Black 1994; Marcos Filho 2005). A entrada da água nesta fase é controlada apenas pelo gradiente de potencial hídrico (Bewley e Black 1994) e podem não ser verificadas diferenças fisiológicas entre as sementes devido ao início do metabolismo, que ocorre apenas a partir da fase II da germinação (Beckert et al. 2000; Marcos Filho 2005).

TABELA 2. Condutividade elétrica ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$) da solução de embebição de sementes de *C. echinata* com diferentes níveis de deterioração, após diferentes períodos de imersão. Médias seguidas pela mesma letra (maiúsculas para comparação entre linhas, minúsculas entre colunas) não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5%.

Níveis de deterioração	Tempo de imersão na solução de embebição (minutos)									Médias
	10	30	60	90	120	180	360	720	1440	
AVMG	50	78	101	104	103	139	145	175	276	130 C
AVMG12	54	100	114	122	125	130	153	163	276	138 BC
BVMG	56	90	113	111	120	146	172	197	321	147 B
BVMG12	77	100	120	127	131	155	180	213	339	160 A
Médias	59 g	92 f	112 ef	116 e	120 de	143 cd	162 c	187 b	303 a	

Outro aspecto importante observado na evolução da liberação de eletrólitos foi o aumento contínuo do valor da condutividade elétrica até as 24 horas de imersão das sementes. Não houve evidente tendência à estabilização dos valores de condutividade elétrica até o último período avaliado, indicando a possibilidade de que esses valores poderiam continuar em marcha crescente caso as sementes permanecessem imersas por maiores períodos. Conforme apontado anteriormente, a liberação de eletrólitos deveria ser progressivamente reduzida à medida em que a semente reorganiza seu sistema de membranas, principalmente ao final da fase I da germinação (Bewley e Black, 1994; Marcos Filho, 2005) que, para sementes de pau-brasil, encerra-se por volta de 120 minutos (Lamarca et al., 2009). Contudo, verificou-se que mesmo após esses primeiros 120 minutos as sementes de pau-brasil continuaram a liberar grandes quantidades de eletrólitos, chegando a mais do que duplicar esses valores até as 24 horas de imersão (Tabela 2). Sementes de pau-brasil apresentam tegumento bastante sensível a alterações de umidade do ambiente e pouco resistentes a impactos físicos (dados não publicados). Além disso, apresentam grande quantidade de estômatos na superfície (Teixeira et al., 2004) e elevada incidência de fungos, mesmo em sementes imaturas (Lisbôa-Padulla et al., 2009; Padulla et al., 2010). Essas características poderiam explicar a evolução dos valores de condutividade elétrica que, nesse caso, não estariam correspondendo necessariamente a distintos níveis de deterioração das sementes.

Condutividade elétrica de sementes inteiras e de embriões por diferentes períodos de embebição: a análise de variância indicou interação entre os três fatores, ou seja, níveis de deterioração, períodos de embebição e presença ou não de tegumento. Portanto, conforme previsto no experimento anterior, a presença do tegumento pode alterar a resposta esperada da relação entre condutividade elétrica e nível de deterioração das sementes de pau-brasil. Considerando-se os valores de germinação das sementes com diferentes níveis de deterioração obtidos após os tratamentos de envelhecimento acelerado (MVMG6, MVMG12 e MVMG18) em relação às sementes sem envelhecimento (MVMG), verificou-se que as principais diferenças ocorreram entre

as sementes MVMG e as MVMG12 e MVMG18 (Tabela 1), uma vez que 6 horas de envelhecimento (MVMG6) não promoveram diferenças em sementes germináveis, germinação ou mesmo IVG. O emprego do teste padronizado de condutividade elétrica (sementes íntegras embebidas por 24 horas - Dias et al., 2006) não teria diagnosticado as diferenças nos níveis de deterioração das sementes de pau-brasil (Tabela 3). Contudo, a remoção do tegumento e a embebição de embriões permitiu separar eficientemente as sementes MVMG das MVMG12 e MVMG18 (Tabela 3).

TABELA 3. Condutividade elétrica ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$) de sementes e embriões de *C. echinata*, com diferentes níveis de deterioração, após diferentes períodos de embebição. Médias seguidas pela mesma letra (minúsculas para comparação entre níveis de deterioração, maiúscula para sementes e embriões e itálicas para períodos de embebição) não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5%.

Períodos de embebição	MVMG		MVMG6		MVMG12		MVMG18	
	Semente	Embrião	Semente	Embrião	Semente	Embrião	Semente	Embrião
12 h	201 aBc	306 aAc	207 aBc	325 aAc	255 aBc	333 aAc	266 aBd	337 aAd
24 h	358 aBb	434 bAb	396 aBb	479 abAb	405 aBb	537 aAb	360 aBc	541 aAc
48 h	516 aBa	678 aAa	533 aBa	661 abAa	523 aBa	605 bAab	543 aBb	655 abAb
72 h	521 bBa	711 bAa	570 bBa	702 bAa	592 bBa	696 bAa	702 aBa	797 aAa
CV (%)	7,80							

A diminuição do período de embebição tem produzido resultados satisfatórios para algumas espécies como soja, feijão-mungo-verde e rúcula (Dias e Marcos Filho, 1996; Alves e Sá, 2009; Araújo et al., 2011). Contudo, para as sementes de pau-brasil a redução de 24 para 12 horas não foi eficiente, nem mesmo quando se utilizaram embriões sem tegumento (Tabela 3). Por outro lado, o aumento do período de embebição, que se mostrou eficiente para outras espécies, como jacarandá-da-Bahia (Marques et al., 2002), somente permitiu a separação entre MVMG e MVMG18 e, ainda assim, após 72 horas de embebição. Os resultados obtidos nesses experimentos indicam que o teste

de condutividade elétrica, em sua forma padronizada, não seria eficiente para o diagnóstico do nível de deterioração de lotes de sementes de pau-brasil, semelhantemente ao observado para sementes de fumo (Carvalho e Novembre, 2011). Contudo, ajustes nessa metodologia, como a embebição de embriões excisados, podem gerar metodologia eficiente para tal diagnóstico. Em todos os níveis de deterioração, foram observadas diferenças significativas nas taxas de liberação de eletrólitos entre sementes inteiras e embriões (Tabela 3). Portanto, o tegumento em sementes de *C. echinata*, apesar de sua permeabilidade (Teixeira et al., 2004), poderia atuar como uma barreira permanente à difusão de exsudados para a solução de embebição durante todo o período de imersão (24 horas), diferentemente do observado em sementes de soja, nas quais tal impedimento ocorre apenas nas primeiras 8 horas (McDonald et al., 1988).

O tegumento pode atuar, também, como uma barreira à própria entrada brusca de água, evitando assim danos causados por embebição (Duke e Kakefuda, 1981). Isso poderia evitar, ainda, a liberação de determinados exsudados que facilitam o desenvolvimento de microorganismos patogênicos durante as primeiras fases da germinação. Em sementes de pau-brasil, a remoção do tegumento poderia resultar em maior rapidez nas taxas de liberação; conseqüentemente, o período para estabilização da liberação de lixiviados deveria ser menor do que o gasto com sementes íntegras, o que não ocorreu neste trabalho no entanto. Apesar dos maiores valores de liberação de eletrólitos pelos embriões excisados, tanto estes quanto os que permaneceram com o tegumento apresentaram estabilização na liberação em períodos semelhantes.

Os aumentos na lixiviação de eletrólitos ao longo dos períodos de embebição (Tabela 3) foram contínuos para todos os níveis de deterioração das sementes, tanto para sementes íntegras quanto para embriões excisados, principalmente até as primeiras 48 horas. No entanto, a partir destas 48 horas, apenas as sementes mais deterioradas (MVMG18) tiveram significativo aumento na condutividade elétrica, provavelmente devido ao fato de suas membranas demorarem mais tempo para restabelecimento de sua característica semipermeável, havendo assim, maior período de

lixiviação de exsudados (Cheng et al., 2005).

Condutividade elétrica de embriões ao longo das primeiras 24 horas de embebição e após troca da solução de embebição: a liberação de eletrólitos dos embriões excisados de pau-brasil não ocorreu de forma contínua até as 24 horas de embebição, para qualquer nível de deterioração das sementes (Figura 1), verificando-se nítida tendência de redução nas taxas dessa liberação após as primeiras 9 horas (Figura 1, A, C e E). Além disso, das 3 primeiras horas de embebição até as 6 horas seguintes houve contínua e expressiva redução na liberação de eletrólitos até que tal liberação quase não ocorresse mais (Figura 1, B, D e F). A partir desse momento, uma nova fase de liberação foi iniciada. Esse padrão de liberação de eletrólitos para a solução de embebição poderia ser um dos responsáveis pela baixa eficiência do teste de condutividade em separar sementes de pau-brasil com diferentes níveis de deterioração. Assim, todas as sementes estariam liberando grandes quantidades de eletrólitos nas primeiras horas de imersão, talvez por danos por embebição, uma vez que a absorção inicial de água por sementes dessa espécie é muito rápida, atingindo a fase II após 2 horas de embebição (Lamarca et al., 2009).

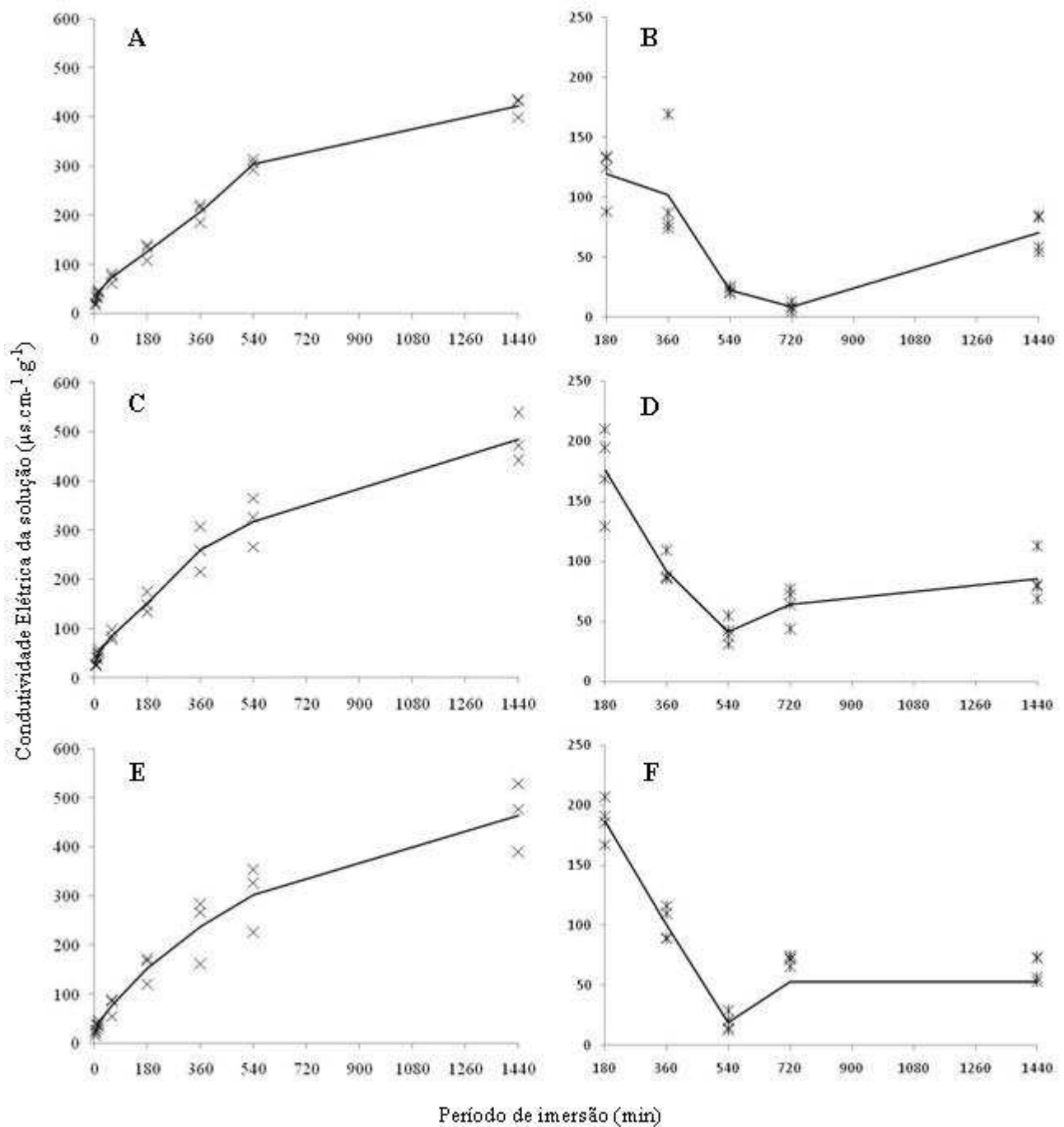


FIGURA 1. Evolução da condutividade elétrica ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$) da solução de embebição de sementes de *C. echinata*, com diferentes níveis de deterioração, nas primeiras 24 horas de imersão. A e B: sementes de AVJ (sem envelhecimento acelerado); C e D: sementes de AVJ6 (com 6 horas de envelhecimento acelerado); E e F: sementes de AVJ9 (com 9 horas de envelhecimento acelerado). A, C e E: valores acumulados de condutividade elétrica. B, D e F: aumento na condutividade elétrica após avaliação anterior.

Baseando-se nessa hipótese, embriões de pau-brasil de diferentes níveis de deterioração (AVJ, AVJ6 e AVJ9) foram imersos em água por 1, 3 e 6 horas, para uma primeira remoção de eletrólitos, sendo então transferidos para nova água até completarem 24 horas de embebição, quando se avaliou a condutividade elétrica dessas soluções. Não foram observadas interações entre os fatores Níveis de deterioração e Período. Assim, foi possível verificar que qualquer um dos períodos de troca gerou os mesmos resultados, separando as amostras em dois lotes distintos, semelhante ao observado nos testes de germinação (Tabelas 1 e 4).

TABELA 4. Condutividade elétrica ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$) da solução de embebição de embriões de *C. echinata*, após 24 horas de imersão em água, de sementes com diferentes níveis de deterioração (AVJ, AVJ6 e AVJ9: respectivamente, sem envelhecimento acelerado, com 6 horas e com 9 horas de envelhecimento), sem troca da solução ou com troca por água pura após 1h, 3h e 6h, após diferentes períodos de embebição. Médias seguidas pela mesma letra (minúsculas para comparação nas colunas, maiúsculas nas linhas) não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5%.

Níveis de deterioração	Período decorrido até a troca da solução				Média
	Sem troca	1 hora	3 horas	6 horas	
AVJ	422	328	253	197	300 B
AVJ6	484	395	339	273	373 A
AVJ9	464	375	334	267	360 A
Média	456 a	366 b	309 c	246 d	

Contudo, considerando-se que os lotes AVJ6 e AVJ9 foram estatisticamente semelhantes entre si (Tabela 1), a troca realizada após 3 horas apresentou resultados mais

próximos entre esses lotes, mostrando indícios de que há possibilidade de se obter uma análise mais homogênea quando realizada a troca da solução após esse período. Essa troca da solução, embora não prevista na metodologia clássica do teste de condutividade elétrica, mostra-se promissora para sementes de pau-brasil.

CONCLUSÕES

- O teste de condutividade elétrica apresenta potencial para diagnóstico de sementes de pau-brasil com diferentes níveis de deterioração, mas necessita ajustes metodológicos;
- para essas sementes, o teste deve ser realizado com embriões excisados;
- a troca da solução de embebição por água pura, após a terceira hora de imersão das sementes, pode ser importante para o correto diagnóstico do nível de deterioração das sementes.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem aos responsáveis pela Reserva Biológica e Estação Experimental de Mogi-Guaçu e Fazenda Santa Carolina, pela permissão para as coletas, bem como a seus funcionários, pelo auxílio nessas coletas; ao Conselho Nacional do Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro ao Projeto (Proc. 481484/2007-8 e 477640/2009-5) e pelas bolsas, de mestrado concedida a N. Martini-Neto (Proc. 553940/2009-0) e de produtividade concedida a C.J. Barbedo (Proc. 306537/2010-9); à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES), pela bolsa de mestrado concedida a E.V. Lamarca; à Fundação de Amparo à Pesquisa Científica do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo auxílio financeiro ao projeto (Proc. 2005/04139-7); ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente, do Instituto de Botânica, pela oportunidade de realização do curso por N. Martini-Neto e E.V. Lamarca.

REFERÊNCIAS

- ABENSPERG-TRAUN, M. CITES, sustainable use of wild species and incentive-driven conservation in developing countries, with an emphasis on southern Africa. **Biological Conservation**, v.142, p.948-963, 2009.
- ALVES, C.Z.; SÁ, M.E. Teste de condutividade elétrica na avaliação do vigor de sementes de rúcula. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, p.203-215, 2009.
- ARAÚJO, R.F.; ZONTA, J.B.; ARAUJO, E.F.; HEBERLE, E.; ZONTA, F.M.G. Teste de condutividade elétrica para sementes de feijão-mungo-verde. **Revista Brasileira de Sementes**, v.33, p.123-130, 2011.
- BARBEDO, C.J.; CICERO, S.M. Utilização do teste de condutividade elétrica para previsão do potencial germinativo de sementes de ingá. **Scientia Agrícola**, v.55, p.249-259, 1998.
- BARBEDO, C.J.; BILIA, D.A.C.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. Tolerância à dessecação e armazenamento de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil), espécie da Mata Atlântica. **Revista Brasileira de Botânica**, v.25, p.431-439, 2002.
- BARROS, A.S.R.; MARCOS FILHO, J. Testes para avaliação rápida do vigor de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v.19, p.288-294, 1997.
- BECKERT, O.P.; MIGUEL, M.H.; MARCOS FILHO, J. Absorção de água e potencial fisiológico em sementes de soja de diferentes tamanhos. **Scientia Agrícola**, v.57, p.671-675, 2000.
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. New York: Plenum Press, 1994.
- BORGES, I.F.; DEL GIUDICE NETO, J.; BILIA, D.A.C.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L.; BARBEDO, C.J. Maturation of seeds of *Caesalpinia echinata* Lam. (brazilwood), an endangered leguminous tree from the Brazilian Atlantic Forest. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.48, p.851-861, 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análises de sementes**. Brasília: SNDA/DNDF, 1992.

CARVALHO, C.; NOVENBRE, A.D.L.C. Avaliação da qualidade de sementes de fumo, nuas e revestidas, pelo teste de condutividade elétrica. **Revista Brasileira de Sementes**, v.33, p.177-185, 2011.

CARVALHO N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 3 ed. Campinas: Fundação Cargill, 2000.

CHENG, H.; ZHENG, G.; WANG, X.; LIU, Y.; YAN, Y.; LIN, J. Possible Involvement of K^+/Na^+ in assessing the seed vigor index. **Journal of Integrative Plant Biology**, v.47, p.935-941, 2005.

DIAS, D.C.F.S.; MARCOS-FILHO, J. Testes de condutividade elétrica para avaliação do vigor de sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill). **Scientia Agricola**, v.53, p.31- 42, 1996.

DIAS D.C.F.S.; BHERING, M.C.; TOKUHISA, D.; HILST, P.C. Teste de condutividade elétrica para avaliação do vigor de sementes de cebola. **Revista Brasileira de Sementes**, v.28, p.154-162, 2006.

DUKE, S.H.; KAKEFUDA, G. 1981. Role of the testa in preventing cellular rupture during imbibition of legume seeds. **Plant Physiology**, v.67, p.449-456, 1981.

FANTI, S.C.; PEREZ, S.C.J.G.A. Efeitos do envelhecimento precoce no vigor de sementes de *Chorisia speciosa* St. Hil. – Bombacaceae. **Revista Árvore**, v.29, p.345-352, 2005.

FESSEL, S.A.; RODRIGUES, T.J.D.; FAGIOLI, M.; VIEIRA, R.D. Temperatura e período de exposição no teste de envelhecimento acelerado em sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, v.22, p.163-170, 2000.

FIGUEIREDO-RIBEIRO R.C.L.; BARBEDO C.J.; ALVES E.S.; DOMINGOS M.; BRAGA M.R. **Pau-brasil: da semente à madeira, conhecer para conservar**. São Paulo: Instituto de Botânica/SMA, 2008.

GASPAR, C.M.; NAKAGAWA, J. Teste de condutividade elétrica em funão do número de

sementes e da quantidade de água para sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, v.24, p.70-76, 2002.

GONZALES, J.L.S.; PAULA, R.C.; VALERI, S.V. Teste de condutividade elétrica em sementes de *Albizia hassleri* (Chodat) Burkart. Fabaceae-Mimosoideae. **Revista Árvore**, v.33, p.625-634, 2009.

HELLMANN, M.E.; MELLO, J.I.O.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L.; BARBEDO, C.J. Tolerância ao congelamento de sementes de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) influenciada pelo teor de água. **Revista Brasileira de Botânica**, v.29, p.91-99, 2006.

KOHAMA, S.; BILIA, D.A.C.; MALUF, A.M., BARBEDO, C.J. Secagem de sementes de grumixama (*Eugenia brasiliensis*). **Revista Brasileira de Sementes**, v.28, p.72-78, 2006.

LAMARCA, E.V. **Velocidade de deterioração de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. sob diferentes taxas respiratórias em função da temperatura e do grau de hidratação.** 2009. 98f. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente) - Instituto de Botânica, São Paulo, 2008.

LAMARCA, E.V.; LEDUC, S.N.M.; BARBEDO, C.J. Viabilidade e vigor de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil – Leguminosae) pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Botânica**, v.32, p.793-803, 2009.

LISBÔA-PADULLA, T.; MORAES, M.H.D.; MENTEN, J.O.M.; BARBEDO, C.J. Tratamento de sementes de pau-brasil com fungicidas: efeito na incidência de fungos, germinação e transmissão de fungos pelas sementes. **Summa Phytopathologica**, v.35, p.148-150, 2009.

LONGUI, E.L.; LOMBARDI, D.R.; ALVES, E.S. Potential brazilian wood species for bows of string instruments. **Holzforschung**, v.64, p.511–520, 2010.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v.2, p.176-177, 1962.

MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. (Eds.). **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: Funep, 1994. p.133-149.

- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: Fealq, 2005.
- MARQUES, M.A.; PAULA, R.C.; RODRIGUES, T.J.D. Adequação do teste de condutividade elétrica para determinar a qualidade fisiológica de sementes de jacarandá-da-bahia (*Dalbergia nigra* (Vell.) Fr. All. ex. Benth). **Revista Brasileira de Sementes**, v.24, p.271-278, 2002.
- McDONALD, M.B.; VERTUCCI, C.W.; ROOS, E.E. Soybean seed imbibition: water absorption by seed parts. **Crop Science**, v.28, p.993-997, 1988.
- MELLO, J.I.O.; BARBEDO, C.J. Temperatura, luz e substrato para a germinação de sementes de pau-brasil *Caesalpinia echinata* Lam., Leguminosae-Caesalpinioideae. **Revista Árvore**, v.31, p.645-655, 2007.
- MØLLER, I.M.; JENSEN, P.E.; HANSSON, A. Oxidative modifications to cellular components in plants. **Annual Review of Plant Biology**, v.58, p.459-481, 2007.
- PADULLA, T.L.; MORAES, M.H.D.; BARBEDO, C.J.; BORGES, I.F.; MENTEN, J.O.M.; PASCHOLATI, S.F. Detecção de fungos em sementes de pau-brasil (*Caesalpinia echinata*) coletadas durante sua formação e dispersão. **Revista Brasileira de Sementes**, v.32, p.154-159, 2010.
- PANOBIANCO, M.; VIEIRA, R.D., PERECIN, D. Electrical conductivity as an indicator of pea seed aging of stored at different temperatures. **Scientia Agrícola**, v.64, p.119-124, 2007.
- PILATTI, F.K.; AGUIAR, T.; SIMÕES, T.; BENSON, E.E.; VIANA, A.M. *In vitro* and cryogenic preservation of plant biodiversity in Brazil. **In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant**, v.47, p.82-98, 2011.
- ROCHA, Y.T. Distribuição geográfica e época de florescimento do pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam. – Leguminosae). **Revista do Departamento de Geografia**, v.20, p.23-36, 2010.
- ROCHA, Y.T.; BARBEDO, A.S.C. Pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam., Leguminosae) na arborização urbana de São Paulo (SP), Rio de Janeiro (RJ) e Recife (PE). **Revista da Sociedade Brasileira de Arborização Urbana**, v.3, p.58-77, 2008.

ROCHA, Y.T.; PRESOTTO, A.; CAVALHEIRO, F. The representation of *Caesalpinia echinata* (Brazilwood) in sixteenth-and-seventeenth-century maps. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.79, p.751-765, 2007.

RODRIGUES, M.B.C.; VILLELA, F.A.; TILLMAN, M.A.A.; CARVALHO, R. Pré-hidratação em sementes de soja e eficiência do teste de condutividade elétrica. **Revista Brasileira de Sementes**, v.28, p.168-181, 2006.

SANTANA, D.G.; RANAL, M.A. **Análise da germinação: um enfoque estatístico**. Brasília: Ed. Universidade de Brasília, 2004.

TEIXEIRA, S.P.; CARMELLO-GUERREIRO, S.M.; MACHADO, S.R. Fruit and seed ontogeny related to the seed behavior of two tropical species of *Caesalpinia* (Leguminosae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v.146, p.57-70, 2004.

CAPÍTULO 2

Utilização de soluções salinas saturadas para obtenção de isothermas de sorção de água de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. (Pau-Brasil)

Resumo – Isotermas de sorção de água expressam a relação entre a quantidade de água das sementes e o ar em seu entorno, para obtenção destas, são utilizadas soluções salinas saturadas, que produzem pressão de vapor de água constante, em temperatura constante, no entanto ainda é desconhecida a dinâmica de equilíbrio entre as soluções salinas saturadas e o ar, e como esta é afetada a partir da inclusão de sementes. Neste trabalho objetivou-se verificar o período de equilíbrio da umidade relativa do ar em frascos herméticos, a partir da inclusão de soluções salinas saturadas de KCl, NaCl, NaNO₂ e CaBr₂, em diferentes proporções, com ou sem a inclusão de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. Observou-se que o período para equilíbrio do ar sem a presença de sementes, foi de aproximadamente 2 dias para todas as soluções e proporções. Com a introdução de sementes, o período foi de aproximadamente 3 dias para os sais KCl e NaCl em todas as proporções, e de 12 dias para os sais NaNO₂ e CaBr₂, sendo observadas diferenças na velocidade e nas umidades relativas obtidas entre as proporções. Sendo assim, para utilização de soluções salinas, a definição do equilíbrio higroscópico deve ser baseada em comparações entre o potencial hídrico das sementes e do ar, sendo que a quantidade de solução salina saturada pode gerar interpretações divergentes quanto ao teor de água apresentado pelas sementes após o equilíbrio higroscópico.

Palavras chave: Soluções salinas saturadas, Isotermas de sorção de água, *Caesalpinia echinata* Lam.

Abstract - Water sorption isotherms illustrate the relation between the amount of water in the seeds and in the air around them, these are obtained using saturated salt solutions, that produce constant water vapor pressure at constant temperature, nevertheless is still unknown the dynamic of equilibrium between saturated salt solutions and the air, and how both can be affected after the inclusion of seeds. This work aimed to verify the necessary period for equilibrium of relative humidity in hermetic chambers, since the inclusion of saturated salt solutions of KCl, NaCl, NaNO₂ and CaBr₂ in different proportions, with or without seeds of *Caesalpinia echinata* Lam. The period for the equilibrium of the air without the presence of seeds was approximately 2 days for all solutions and proportions. With the introduction of seeds, the period was approximately 3 days for KCl and NaCl in all proportions, and 12 days for NaNO₂ CaBr₂, was observed differences in speed and relative humidity obtained between the proportions. Thus, for saturated salt solutions, the definition of equilibrium moisture content must be based on comparisons between the water potential of seed and the air, furthermore, the amount of saturated salt solution can generate controversial interpretations of the water of the seeds after the hygroscopic equilibrium.

Index terms: Saturated salt solutions, Water sorption isotherms, *Caesalpinia echinata* Lam.

Introdução

As sementes são organismos altamente higroscópicos estando constantemente num processo dinâmico de troca de umidade (Carvalho e Nakagawa 1986), isto, devido a sua capacidade de retenção de água, determinada principalmente pela composição química da semente, associada a quantidade de água da atmosfera (Marcos Filho 2005). Sendo assim, a água tem grande influência, na fisiologia de sementes, participando de diversos eventos metabólicos (Alpert e Oliver 2002).

As sementes cedem ou absorvem água do ar que as envolve. Esta dinâmica de troca hídrica é controlada pela diferença de pressão de vapor da água contida na semente e a pressão de vapor da água dispersa no ar. Quando a pressão da água da superfície da semente se iguala à pressão de vapor do ar ambiente, obtêm-se o equilíbrio higroscópico (Carvalho e Nakagawa 1986; Marcos Filho 2005)

Soluções salinas saturadas produzem pressão de vapor da água constante em temperatura constante (Vertucci e Roos 1993; Sun 2002; Medeiros 2006) e são largamente utilizadas em pesquisas que visam a analisar as relações entre umidade relativa do ar, temperatura e grau de umidade de equilíbrio das sementes (Vertucci e Roos 1990; Walters 1998; Walters *et al.* 1998; Mira *et al.* 2010; Choudhury *et al.* 2011; Bazin *et al.* 2011). Esta relação é obtida a partir de isotermas de sorção de água, que são uma importante ferramenta no estudo das relações hídricas em sementes (Vertucci e Roos 1993; Sun 2002).

Estudos dessa natureza visam, principalmente, à identificação do ponto crítico de água, visando obter máximo período de armazenamento (Zhang *et al.* 2010), objetivando o armazenamento em diferentes temperaturas (Walters *et al.* 1998; Ballesteros e Walters 2007), ou à definição de modelos que possam ser aplicáveis a diversas espécies (Ellis e Roberts 1980; Ellis *et al.* 2006). Além disso, buscam verificar os efeitos de diferentes métodos de secagem (Wesley-Smith

et al. 2001; Buttler *et al.* 2009) e de deterioração controlada (Fessel *et al.* 2005; Silva *et al.* 2010) sobre a qualidade fisiológica de sementes.

No entanto, são inexistentes na literatura estudos que analisem a dinâmica de equilíbrio do ar no interior dos frascos herméticos durante a secagem, o período necessário para equilíbrio higroscópico das sementes e se este pode ser variável de acordo com a espécie, teor de água, ou mesmo com quantidade de soluções salinas saturadas nos frascos herméticos.

Este trabalho teve por objetivo avaliar o período necessário para equilíbrio da umidade relativa do ar em frascos herméticos a partir de introdução de soluções salinas saturadas e da introdução de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil).

Material e Métodos

Obtenção do Material Vegetal

Foram utilizadas sementes provenientes da Reserva Biológica e Estação Experimental de Moji-Guaçu, em Mogi-Guaçu, SP (47°08'W, 22°15'S), no ano de 2005, que foram coletadas e armazenadas em câmara fria, a 5°C, onde permaneceram até o início dos experimentos, realizados em 2010. Testes de germinação realizados com essas sementes demonstraram que, por ocasião de sua utilização no presente trabalho, estavam inviáveis, o que era desejado pois a atividade metabólica de sementes poderia interferir na estabilidade da umidade relativa do ar, dificultando seu equilíbrio higroscópico com as soluções salinas.

As sementes de *C. echinata* foram acondicionadas em frasco hermético com umidade relativa de aproximadamente 100% ($\pm 5\%$), controlada a partir de água deionizada, sem entrar em contato com a água, durante uma semana, para padronização e homogeneização de seu teor de água. A seguir, as sementes foram retiradas e utilizadas nos experimentos descritos a seguir.

Determinações físicas

As sementes foram caracterizadas quanto ao teor de água e potencial hídrico. O teor de água foi determinado gravimetricamente, pelo método da estufa a 103°C, por 17 horas (ISTA 1985). Foram medidos os potenciais hídricos, separadamente, de embriões excisados e de tegumentos, por meio de medidor WP4 (Decagon, Pullmann), que se baseia na temperatura do ponto de orvalho para obtenção do potencial hídrico. Os valores foram expressos em -MPa.

Soluções Salinas Saturadas

Foram utilizados os sais Cloreto de Potássio (KCl), Cloreto de Sódio (NaCl), Nitrato de Sódio (NaNO₂) e Brometo de Cálcio (CaBr₂). Para obtenção das soluções, frascos com água deionizada foram acondicionados em ambiente hermético a 25°C ($\pm 1^\circ\text{C}$), adicionando-se sal à solução até a formação do precipitado, conforme metodologia descrita por Vertucci e Roos (1993).

Os valores de umidade relativa do ar dos frascos foram obtidos e gravados por meio de Higrômetro Data Logger e Estação Meteorológica, modelo 3030.15 (Incoterm, Porto Alegre) doravante denominado apenas como higrômetro, programado para gravação dos dados obtidos após diferentes períodos. Este equipamento baseia-se na aferição de umidade relativa e temperatura, utilizando-se de diferentes bases periféricas que permanecem em contato com o ar controlado e comunicam-se com a base central. Esta efetua a gravação dos dados, a partir de ondas de rádio, possibilitando assim, a aferição sem a abertura do frasco hermético.

Para cada sal, foram definidas 4 proporções de soluções salinas, estabelecendo relações entre volume de solução : volume de ar, este calculado a partir do volume padrão de 1.280 ml. Este volume padrão foi calculado tendo como base o volume total do frasco hermético e subtraindo-se o volume ocupado pela solução salina saturada e o volume aproximado da base do higrômetro. Dessa forma, estabeleceram-se as seguintes proporções entre volume de solução/volume de ar, doravante denominadas proporções solução/ar: 1/128 ($7,8 \cdot 10^{-3}$), 1/64 ($1,56 \cdot 10^{-2}$), 1/32 ($3,1 \cdot 10^{-2}$) e 1/16 ($6,2 \cdot 10^{-2}$).

²). Para se obterem estas relações foram utilizadas, respectivamente, 9,90, 19,66, 38,73 e 75,18 ml de solução.

Os valores de umidade relativa obtidos por meio do higrômetro foram convertidos a potencial hídrico (-MPa) a partir da fórmula:

$$\Psi = -(\ln(a_w) \cdot T \cdot 4,55/10)$$

Onde:

Ψ : potencial hídrico do ar

a_w : Atividade da água (UR%/100)

T: Temperatura (Kelvin)

Períodos para equilíbrio do ar de frascos herméticos a partir da inclusão de soluções salinas saturadas em diferentes proporções

Neste experimento, inicialmente foram inseridas aproximadamente 100g de sílica-gel, em pérolas, em frascos herméticos contendo higrômetro regulado para efetuar medições a cada 3 horas, permanecendo no frasco hermético durante uma semana. Tal procedimento visou a reduzir a umidade relativa do ar para valores de aproximadamente 5% (± 5). Após esse período, o frasco de sílica-gel foi retirado e imediatamente substituído por soluções salinas saturadas dos sais e proporções descritos anteriormente.

As soluções permaneceram no frasco hermético até que o equilíbrio higroscópico fosse atingido, ou seja, quando não foram registradas variações maiores do que 5% na umidade relativa do frasco durante 4 horas. Após esse equilíbrio, o frasco contendo solução salina saturada foi retirado e novamente substituído por frasco contendo sílica-gel azul em pérolas.

Períodos para equilíbrio do ar de frascos herméticos contendo soluções salinas saturadas a partir da inclusão de sementes de Caesalpinia echinata Lam.

Soluções salinas saturadas nas proporções anteriormente descritas foram inseridos em frascos herméticos contendo higrômetro regulado para efetuar medições a cada 9 horas. As soluções salinas saturadas permaneceram durante 48 horas no frasco hermético quando, então, inseriram-se 50 sementes de *C. echinata*. As sementes permaneceram no frasco hermético até que novo equilíbrio higroscópico fosse atingido, considerado quando não foram registradas variações maiores do que 5% na umidade relativa do frasco durante 4 horas. Ao final desse período, as sementes foram retiradas e caracterizadas quanto ao teor de água e potencial hídrico, conforme descrito anteriormente.

Delineamento experimental

Os experimentos de períodos para equilíbrio para umidade relativa foram realizados em duas repetições, sendo os resultados expressos a partir de médias simples. O teor de água e o potencial hídrico foram realizados em duas repetições de 5 sementes cada.

Resultados e Discussão

Períodos para equilíbrio do ar de frascos herméticos a partir da inclusão de soluções salinas saturadas em diferentes proporções

Em todos os sais observados, o período médio para equilíbrio foi de aproximadamente 1000 minutos (16 horas), podendo ser observadas pequenas mudanças na umidade relativa do frasco após esse período (Figura 1). No entanto, as variações não foram maiores que 5%. O potencial hídrico, por sua vez, variou de aproximadamente -200 MPa em CaBr_2 a -25 MPa em KCl, correspondendo a umidades relativas do ar de, aproximadamente, 25% e 85%, respectivamente (Figura 1 A, C, E e G). Deve-se salientar que esse período médio para equilíbrio foi contado a partir de valores extremamente baixos de umidades relativa, obtidas após inclusão de sílica-gel em pérolas. Portanto, a partir de outros valores de umidade relativa esse período pode ser variável. Por esse motivo,

estabeleceu-se uma margem de erro para o equilíbrio higroscópico, sendo este considerado como atingido após aproximadamente 3000 minutos (48 horas).

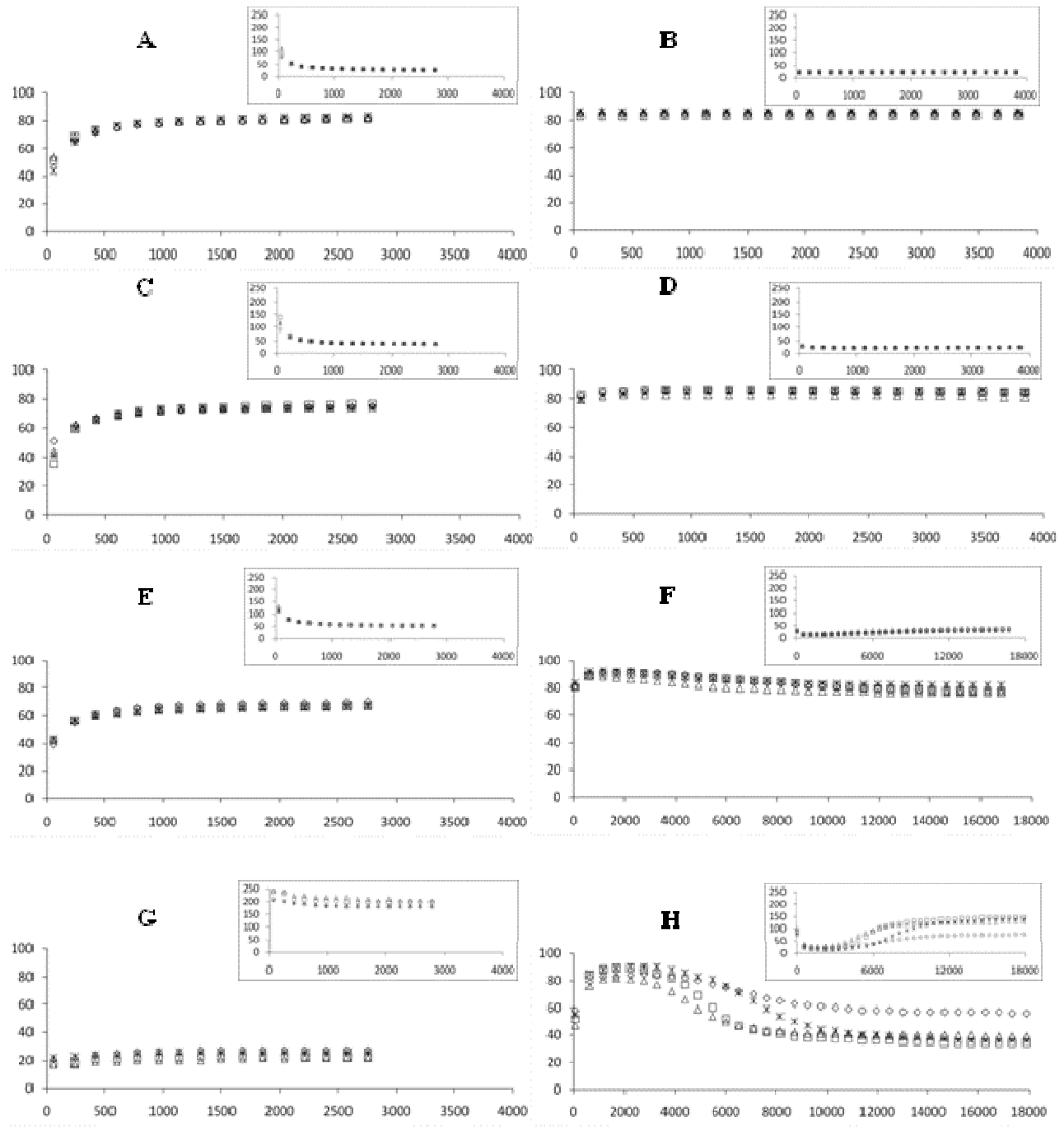


Figura 1. Umidade relativa do ar de câmaras herméticas a 25°C, contendo soluções salinas de KCl (A e B), NaCl (C e D), NaNO_2 (E e F) e CaBr_2 (G e H) após diferentes períodos de incubação. A, C, E e G: sem a presença de sementes. B, D, F e H: com a presença de sementes de *C. echinata*, com teor aproximado de 35% (base úmida) de água. Foram incubadas soluções em diferentes proporções entre volume de solução salina e volume de ar (L.L^{-1}): (◇ $7,8 \cdot 10^{-3}$; ☆ $1,56 \cdot 10^{-2}$; □ $3,1 \cdot 10^{-2}$; △ $6,2 \cdot 10^{-2}$). As medições foram plotadas em intervalos de 3 horas (A, B, C, D, E, G,) e em intervalos de 9 horas (F e H). No detalhe, potencial hídrico (-MPa).

Não foram observadas diferenças na velocidade de equilíbrio do ar, entre as diferentes proporções solução/ar utilizadas (Figura 1 A,C,E e G). Os valores de umidade relativa, quando convertidos em potencial hídrico, mostraram diferenças maiores para as proporções solução/ar quando a umidade relativa era menor. Isso se deve ao fato do potencial hídrico não apresentar uma relação linear entre quantidade de água disponível no ar e nas soluções salinas saturadas, mas sim entre as forças de atração à água, que tendem a ser progressivamente maiores de acordo com a diminuição da umidade relativa no ambiente (Sun 2002). Sendo assim, com a diminuição da umidade relativa, pequenas alterações correspondem a grandes mudanças nos valores de potencial hídrico do ar e esta relação é inversa em umidades relativas maiores.

Isto é reforçado pela idéia de que, em experimentos envolvendo relações hídricas, além da quantidade de água, deveriam ser consideradas também, a força de atração gerada através da retirada desta, expressas pelo potencial hídrico, como já descrito por Simon e Wiebe (1975) ao avaliar danos por embebição em sementes de ervilha e Vertucci e Roos (1990) ao propor que as condições de armazenamento de sementes fossem baseadas a partir da atividade de água do ar em equilíbrio com as sementes e não apenas em teor de água.

Períodos para equilíbrio do ar de frascos herméticos contendo soluções salinas saturadas a partir da inclusão de sementes de Caesalpinia echinata Lam.

A tabela 1 expressa os resultados de teor de água e potencial hídrico obtidos após o equilíbrio com as soluções salinas. Em função da baixa disponibilidade de sementes, quando constatados valores semelhantes de umidade relativa entre as diferentes proporções efetuou-se apenas uma avaliação do teor de água e potencial hídrico da proporção 1/16.

As sementes, quando retiradas da incubação em atmosfera controlada por meio de água destilada, apresentavam por volta de 32% de água (base úmida), correspondentes a aproximadamente -15 MPa. Quando inseridas nos frascos contendo as soluções salinas, observou-se

imediatamente um aumento nos valores de umidade relativa do ar, indicando que a água contida na semente foi facilmente deslocada para o ar dos frascos e para as soluções salinas (Figura 1 B,D,F e H).

Nas umidades relativas controladas por meio de solução salina saturada de KCl, as alterações na umidade relativa após a inclusão das sementes foram quase imperceptíveis. No entanto, na solução de NaCl verificou-se uma leve alteração na umidade relativa que aumentou nas soluções de NaNO₂ e CaBr₂ (Figura 1 B, D e F).

Tabela 1. Umidade relativa do ar (média), teor de água e potencial hídrico de embrião sem tegumento e tegumento de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. após equilíbrio em atmosfera controlada por meio de soluções salinas saturadas de KCl, NaCl, NaNO₂ na proporção 3,1.10⁻².

	Umidade Relativa (%)	Teor de água (%)	Potencial Hídrico (-MPa)	
			Embrião	Tegumento
KCl	85	16,5	27,6	34,3
NaCl	75	12,7	44,5	50,0
NaNO ₂	65	10,7	67,5	75,0

Nas soluções de KCl e NaCl, considerou-se equilíbrio após aproximadamente 4000 minutos (66 horas), o potencial hídrico das sementes foi próximo ao calculado a partir da umidade relativa do ar, confirmando o equilíbrio higroscópico (Tabela 1 Figura 1 B e D). Nos sais NaNO₂ e CaBr₂, o período necessário para equilíbrio das sementes foi maior, aproximadamente 17000 minutos (283 horas / 12 dias), além disso, foram observadas maiores diferenças entre potenciais hídricos das sementes e do ar (Figura 1 F e H).

As primeiras fases da embebição da semente são puramente físicas, controladas apenas pelo potencial matricial e osmótico (Bewley e Black 1994), portanto, quanto maiores as forças de atração da semente à água, maiores diferenças poderão ser observadas em pequenas alterações na umidade relativa, causadas por fatores como mudanças de temperatura, ou mesmo a manipulação das sementes.

Não foram observadas diferenças entre as proporções de solução salina utilizadas nos sais KCl e NaCl (Figura 1 B e D), no entanto a partir da inclusão do sal NaNO_2 , os decréscimos na umidade relativa ocorreram mais rapidamente na proporção 1/16, quando comparados as outras proporções utilizadas (Figura 1 C). Em CaBr_2 foram observadas não só diferenças mais expressivas na velocidade de decréscimo como também nos valores finais de umidade relativa, na proporção 1/128, o equilíbrio higroscópico foi obtido em aproximadamente 56% enquanto que todas as outras proporções apresentaram equilíbrio por volta de 30% (Figura 1 H), estas diferenças também puderam ser constatadas nos valores de teor de água e potencial hídrico das sementes (tabela 2).

Tabela2. Umidade relativa do ar, teor de água e potencial hídrico (-MPa) de embrião sem tegumento e tegumento de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. após equilíbrio em atmosfera controlada por meio de solução salina saturadas de CaBr_2 em diferentes proporções.

Proporções	Teor de água (%)	CaBr_2	
		Potencial Hídrico (-MPa)	
		Embrião	Tegumento
$7,8 \cdot 10^{-3}$	7,5	-91,5	-97,3
$1,56 \cdot 10^{-2}$	6,5	-116,8	-131,7
$3,1 \cdot 10^{-2}$	6,3	-128,3	-136,5
$6,2 \cdot 10^{-2}$	6,5	-112,1	-145,8

Isotermas de sorção expressam a dependência do teor de água em relação a atividade da água do ambiente, em temperatura constante (Sun 2002), e têm sido largamente utilizadas para a análise de relações hídricas em sementes por indicar mudanças no estado energético da água em sementes (Vertucci e Roos 1990 e 1993; Walters 1998; Ballesteros e Walters 2007; Gazor 2010; Bazin 2011; Butler *et al.* 2009; Choudhury *et al.* 2011), e a melhor forma de obtenção destas isotermas é por meio da utilização de soluções salinas saturadas.

As sementes permanecem em contato com as soluções salinas saturadas até o equilíbrio higroscópico, constatado a partir de avaliações gravimétricas, realizadas diariamente (Gazor, 2010;

Abreu 2009), semanalmente (Vertucci e Roos 1993), chegando até mesmo a avaliação após 6 meses de permanência (Ballesteros e Walters 2007).

No entanto, comumente, a amostra é retirada do frasco hermético para pesagem, e, considerando que a troca gasosa entre o ar presente no frasco hermético e a atmosfera externa ocorre por difusão quase que instantaneamente após a abertura do frasco, a umidade relativa interna, anteriormente mantida em equilíbrio por meio das soluções salinas saturadas, sofre mudanças e entra novamente em processo de equilíbrio após o fechamento da câmara.

Além disso, os diferentes tipos de água nas sementes, claramente observados nas isotermas de sorção (Vertucci e Roos, 1990; Marcos Filho 2005), representam diferentes potenciais hídricos devido as forças de atração pela água e portanto, a retirada da água tende a ser mais lenta quanto maiores forem estas forças, fazendo com que as relações entre potencial hídrico e teor de água não sejam lineares, como o expresso por Sun (2002). Isso explica porque sementes submetidas a secagem em soluções salinas saturadas que promovem umidades relativas mais baixas, como NaNO_2 e CaBr_2 , levam mais tempo para apresentar o equilíbrio higroscópico (Figura 1 F e H), que poderia ser confirmado comparando-se os potenciais hídricos apresentados pelas sementes, com o obtido a partir da umidade relativa do frasco em que estas estão acondicionadas.

Ballesteros e Walters (2007) e Bazin *et al.* (2011), ajustaram suas isotermas, considerando que os valores de umidade relativa, obtidos a partir da utilização de soluções salinas saturadas, foram os mesmos sumarizados por Vertucci e Roos (1993) ou Sun (2002) a partir de trabalhos de Winston e Bates (1960) e Rockland (1960).

No entanto, a quantidade de solução salina saturada no frasco pode gerar umidades relativas diferentes das expressas por estes autores, gerando divergências entre o teor de água de equilíbrio e a real umidade relativa presente na câmara. Portanto, para a utilização de soluções salinas saturadas,

deve-se considerar, além do teor de água das sementes, o potencial hídrico das mesmas, comparados ao real potencial hídrico das câmaras herméticas.

Conclusões

- São necessárias 48 horas para equilíbrio da umidade relativa do ar a partir da inclusão de soluções salinas saturadas em ambiente hermético sem a presença de sementes, e 12 dias com a presença das sementes;
- A quantidade de soluções salinas presente no ambiente hermético influencia não só a velocidade de equilíbrio da umidade relativa do ar como também o equilíbrio desta ao final do período;
- Para a determinação do equilíbrio higroscópico, deve-se comparar o potencial hídrico apresentado pelas sementes e o presente no ar do ambiente hermético.

Referências Bibliográficas

- ABREU, D.C.A. 2009. Bases Fisiológicas para a conservação a longo prazo de sementes de *Cariniana legalis* (Mart.) O. Kuntze. Tese de doutorado. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Jaboticabal, SP.
- ALPERT, P.; OLIVER, M.J. 2002. Drying without dying. In: Dessication and survival in plants Drying without Dying. (BLACK M. E PRITCHARD, H.W.) CABI publishing p. 48-84.
- BALLESTEROS D.; WALTERS C. 2007. Water properties in fern spores: sorption characteristics relating to water affinity, glassy states, and storage stability. *Journal of experimental botany* 58 5:1185-1196.
- BARBEDO C.J., BILIA, D.A.C. & FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. 2002. Tolerância à dessecação e armazenamento de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil), espécie da Mata Atlântica. *Revista brasileira de botânica*, 25:431-439.
- BAZIN J.; BATLLA D.; DUSSERT S.; MAAROUF-BOUTEAU, H.; BAILLY C. 2011. Role of relative humidity, temperature, and water status in dormancy alleviation of sunflower seeds during dry after-ripening. *Journal of experimental botany*, 62:627-640.
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. 1994. Seed physiology of development and germination. 2.ed. Plenum Press, London.
- BUTLER L.H.; HAY, F.R.; ELLIS R.H. SMITH R.D. 2009. Post abscission, predispersal seeds of *Digitalis purpurea* remain in a developmental state that is not terminated by desiccation *ex planta*. *Annals of botany* 103:785-794.
- CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. 1986. Sementes: ciência, tecnologia e produção. 4.ed. Jaboticabal, Funep, 588p.

- CHOUDHURY D.; SAHU J.K.; SHARMA G.D. 2011. Moisture sorption isotherms, heat of sorption and properties of sorbed water of raw bamboo (*Dendrocalamus longispathus*) shoots. Industrial crops and products 33:211-216.
- ELLIS R.H.; ROBERTS E.H. 1980. Improved equations for the prediction of seed longevity. Annals of botany 45:13-30.
- ELLIS, R.H.; HONG, T.D. 2006. Temperature Sensivity of the Low-moisture-content Limit to Negative Seed Longevity-Moisture Content Relationships in Hermetic Storage. Annals of botany 97:785-791
- FESSEL,S.A.; SILVA, L.J.R.; GALLI, J.A.; SADER, R. 2005. Uso de solução salina (NaCl) no teste de envclhecimento acelerado em sementes de brócolis (*Brassica oleracea* L. var. *itálica* Plenck). Ciência 33:27-34.
- GAZOR H.R. 2010. Moisture isotherms and heat of desorption of canola. Agric. Eng. Int. 12:79.
- ISTA. 1985. International rules for seed testing. Seed Science and Technology 13: 356-513.
- MARCOS FILHO, J. 2005. Fisiologia de sementes de plantas cultivadas. Piracicaba, Fealq, 495p.
- MEDEIROS, A.C.S. 2006. Preparo de soluções salinas saturadas para a caracterização fisiológica de sementes florestais. Colombo: Embrapa Florestas, 2006. 6p. (Circular técnica, 125).
- MIRA, S.; GONZALES-BENITO, M.E.; HILL L.M.; WALTERS C.2010. Characterization of volatile production during storage of lettuce (*Lactuca sativa*) seed. Journal of Experimental Botany 61:3915-3924.
- ROCKLAND, L.B. 1960. Saturated salt solutions for static control of relative humidity between 5°C and 40°C. Analytical Chemistry 32:1375-1376
- SILVA C.B.; PIVETTA K.F.L.; OLIVEIRA C.A.V.M.; RODRIGUES M.A.; VIEIRA R.D. 2010. Teste de envelhecimento acelerado para avaliação do potencial fisiológico de sementes de grama-bermuda. Revista brasileira de sementes 32:102-107.

- SIMON E.W.; WIEBE, H.H. 1975. Leakage during imbibition, resistance to damage at low temperature and the water content of peas. *New Phytologist* 74:407-411.
- SUN, W.Q. 2002. Methods for the study of water relations under dessication stress. In: *Dessication and survival in plants Drying without Dying*. (BLACK M. E PRITCHARD, H.W.) CABI publishing p. 48-84.
- VERTUCCI, C.W.; ROOS, E.E. 1990. Theoretical basis of protocols for seed storage. *Plant Physiology* 94:1019-1023.
- VERTUCCI, C. W. ; ROOS E. E., 1993. Theoretical basis of protocols for seed storage II. The influence of temperature on optimal moisture levels. *Seed Science Research*, 1993 - 3. 201-213.
- WALTERS, C. 1998. Ultra-dry technology: perspective from the National Seed Storage Laboratory, USA. *Seed Science Research* (suplemento): 11-14.
- WALTERS, C.; RAO, N.K.; HU, X. 1998. Optimizing seed water content to improve longevity in *ex situ* genebanks. *Seed Science Research*, v8 Supplement 1:15-22.
- WESLEY-SMITH J.; PAMMENTER N.W.; BERJAK P.; WALTERS C. 2001. The effects os two drying rates in the dessication tolerance of embryonic axes of recalcitrant jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lamk.) seeds. *Annals of Botany* 88:653-664.
- WINSTON, P.W.; BATES, D.H. 1960. Saturated salt solutions for the control of humidity in biological research. *Ecology* 41:232-236.
- ZHANG M.; ZHUO J.; WANG X.; WU, S.; WANG, X. 2010. Optimizing seed water content: Relevance to storage Stability and Molecular Mobility. *Journal of integrative plant biology*. 52 3:324-331.

CAPÍTULO 3

Potencial de armazenamento de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. em temperatura ambiente

Resumo - O armazenamento de sementes em temperatura ambiente é uma importante ferramenta como estratégia de conservação *ex situ*, diminuindo os custos de sua manutenção. No entanto, as altas taxas de deterioração, causadas principalmente pela produção de radicais livres, diminuem o potencial de armazenamento. Diante disso, a busca do teor de água ótimo para este tipo de armazenamento assume papel fundamental. Este trabalho teve como objetivo verificar o potencial de armazenamento de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. em diferentes teores de água, obtidos através de soluções salinas saturadas, em temperatura ambiente, bem como verificar os efeitos do armazenamento nas taxas respiratórias destas. As sementes apresentaram-se tolerantes a teores de água abaixo de 5%, no entanto ainda apresentam baixo potencial de armazenamento em temperatura ambiente. Esta rápida deterioração pode ser relacionada as altas taxas oxidativas observadas, indicando que outros fatores podem estar relacionados ao baixo período de armazenamento destas sementes, como a fotooxidação.

Palavras chave: armazenamento, tolerância a dessecação, respiração, fotooxidação, *Caesalpinia echinata* Lam., pau-brasil.

Abstract – Storing seeds at room temperature is an important tool as a strategy for *ex situ* conservation, reducing maintaining costs. However, high rates of deterioration, mainly caused by the production of free radicals, reduce the storing potential. Thus, the search for the optimum moisture content for this type of storage assume a critical role. This study aimed to determine the storage potential of seeds of *Caesalpinia echinata* Lam. at different water contents, obtained by saturated salt solutions, at room temperature, and to verify the effects of storage in respiratory rates. The seeds were tolerant to water contents below 5%, but still have low potential for storage at room temperature. This rapid deterioration may be related to the high oxidative rates observed, indicating that other factors may be related to the low storage period of these seeds, such as photooxidation.

Index terms: seed storage, desiccation tolerance, respiration, photooxidation, *Caesalpinia echinata* Lam., Pau-brasil

Introdução

A preservação de recursos genéticos baseia-se na conservação *in situ*, mantendo-se plantas vivas em seu habitat natural e *ex situ*, mantendo-se pólenes, culturas de tecidos, plantas vivas e sementes em condições artificiais (Botanic Gardens Conservation International 2001). Para que esta última forma seja eficiente, as sementes devem possuir características que permitam sua conservação de forma segura e economicamente viável (Carvalho e Nakagawa 2000). No entanto, a falta de conhecimento mínimo sobre o comportamento das sementes de muitas espécies florestais, principalmente as tropicais nativas do Brasil, não permite o uso dessa estratégia de conservação (Pilatti *et al.* 2011). Além disso, técnicas mais aprimoradas de armazenamento muitas vezes não são utilizadas pela falta de infraestrutura necessária ou pelo elevado custo para o correto armazenamento, como ocorre com sementes de *Caesalpinia echinata*, o pau-brasil, uma das espécies mais importantes da flora brasileira e atualmente em risco de extinção. O estado atual do conhecimento sobre as semente dessa espécie demonstra que sua conservação exige temperaturas sub-zero (Hellmann *et al.* 2006) pois, quando armazenadas em temperaturas iguais ou próximas às do ambiente, perdem a viabilidade em menos de 60 dias (Barbedo *et al.* 2002).

A rápida perda da viabilidade das sementes, principalmente quando técnicas especiais não são adotadas, sugere algum grau de recalcitrância. Isso porque são observados dois comportamentos ao final da maturação. As sementes denominadas ortodoxas toleram secagem até níveis baixos de água, inferiores a 10%. As sementes recalcitrantes, por sua vez, apresentam limites de tolerância à dessecação, perdendo a viabilidade quando seu teor de água é reduzido para valores inferiores a, aproximadamente, 20% (Kermode e Bewley 1985). Essa diferença acarreta comportamentos diferenciados durante o armazenamento das sementes, uma vez que a remoção de água é a principal ferramenta para a conservação a longo prazo. A maior questão em estudos de conservação de sementes é, exatamente, o tempo em que as sementes poderão ser armazenadas em dadas condições

(Probert *et al.* 2007). A possibilidade do controle da perda de água é, portanto, essencial nesse processo. A água controla reações metabólicas dentro da semente sendo o veículo de transporte e mobilização de substâncias nas células. Reduzindo-se seu teor para valores mínimos, é possível diminuir o metabolismo da semente podendo, assim, aumentar seu período de armazenamento (Kermode 1990, Kermode & Bewley 1985).

Existem dois mecanismos principais envolvidos no processo de tolerância a dessecação visando a evitar, principalmente, danos a macromoléculas e proteínas, presentes nas membranas plasmáticas. Isto porque a retirada da água da semente desencadeia diversos processos oxidativos. O primeiro envolve a produção de substâncias protetoras, como açúcares (Mello *et al.* 2010) e LEA proteínas (Barbedo e Marcos Filho 1998) e o segundo é baseado na produção de mecanismos de reparo como sistemas antioxidantes, durante a reidratação da semente (Buitink *et al.* 2002).

No entanto, mesmo entre sementes tolerantes à dessecação, a redução excessiva do teor de água das sementes não necessariamente significa aumento na longevidade das mesmas. É o que ocorre com sementes de *C. echinata*, como descrito anteriormente, que toleram secagem até valores inferiores a 10% de água, mas não se conservam em temperaturas acima de 8-10°C. A remoção da água pode, inclusive, prejudicar a capacidade de conservação das sementes em armazenamento (Walters 1998; Ellis *et al.* 2006), isto porque aceleram as taxas de deterioração, sendo este um processo inevitável e constante. No entanto, a deterioração pode ser minimizada durante o armazenamento (Carvalho e Nakagawa 2000).

Após atingir a maturidade fisiológica, as sementes começam a entrar em deterioração e fatores como temperatura e umidade relativa do ar podem acelerar este processo, pois favorecem o aumento da taxa respiratória e conseqüentemente todo o metabolismo da semente. A deterioração proporciona alterações fisiológicas, bioquímicas, físicas e citológicas, determinando a queda do vigor e conseqüentemente da qualidade, culminando com a morte da semente (Marcos Filho 2005). A velocidade do processo de deterioração das sementes pode variar em função da longevidade

natural, da composição química e das diferenças genéticas, aliadas à qualidade inicial, grau de umidade e às condições do ambiente (Popinigis 1985; Carvalho & Nakagawa 2000).

A respiração e a deterioração estão estreitamente relacionadas. O armazenamento de sementes com respiração ativa e elevada intensifica a deterioração causando a perda do vigor e eventuais quedas na germinação, sendo o grau de hidratação um dos principais fatores que altera a energia livre da água e o comportamento metabólico das sementes (Lamarca 2009).

No entanto, outros fatores podem influenciar a velocidade da deterioração, como a temperatura (Ellis *et al.* 2006; Leopold *et al.* 1994). Sementes expostas a temperaturas muito elevadas durante minutos podem apresentar idade fisiológica ou grau de deterioração mais avançado do que outras armazenadas sob baixa temperatura e umidade relativa do ar durante vários anos (Marcos Filho 2005). Outro fator envolvido nessa deterioração é a luz, por meio da fotooxidação, causada principalmente por excitação de moléculas de clorofila presentes tanto no tegumento, quanto nos cotilédones pela luz, durante a dispersão, beneficiamento e armazenamento de sementes (Roqueiro, 2010).

A produção de radicais livres é a maior consequência do estresse em plantas. A produção de espécies reativas de oxigênio de forma descontrolada tende a causar danos oxidativos, geralmente na forma de peroxidação lipídica, reagindo principalmente com as membranas plasmáticas, resultando em outros eventos como decréscimo da fluidez, associadas a mudanças na estrutura da membrana e inativação de proteínas, incluindo proteínas de transporte e receptoras além de mudanças na permeabilidade da membrana. (Hendry 1993).

Por isso, torna-se necessário o controle de alterações que ocorrem durante o armazenamento e a eventual necessidade ou sensibilidade das sementes ao processo de dessecação (Kermode 1990; Carvalho e Nakagawa 2000), visando a definir qual a quantidade água ideal para o armazenamento de cada espécie, isto porque diferentes espécies de sementes apresentam diferentes relações hídricas, que podem variar inclusive de acordo com a composição química das mesmas (Vertucci e

Roos 1990). Havendo, além disso, diferenças nas relações hídricas, mesmo entre partes da mesma semente (Sun e Liang 2001).

Portanto, não há valores padronizados, em termos de porcentagem ou relação massa de água : massa de matéria seca, que possam ser aplicados às sementes de todas as espécies, pois sementes com mesmo teor de água podem apresentar diferentes potenciais hídricos (Walters 1998). O potencial hídrico, visto no sentido da energia ou atividade das moléculas de água, associa a quantidade de água presente na semente, de solutos dissolvidos nessa água, a retenção dessas moléculas pelas matrizes dos componentes celulares e a temperatura do sistema.

Além disso, a energia envolvida no processo de movimentação da água pode ser medida de acordo com a viscosidade do sistema, sendo que quanto mais água for retirada, maior a energia liberada, mostrando não só o quanto de água está sendo retirada da semente, mas também qual a força de ligação desta à semente, esta relação pode ser obtida através de isotermas de sorção de água (Walters 1998, Castro *et al.* 2004, Nagarajan *et al.* 2005). Com isso, isotermas de sorção de água tornam-se uma importante ferramenta para o estudo dessas variáveis, pois relacionam o teor de água da semente com a umidade relativa do ar na qual ela se encontra armazenada (Vertucci & Roos 1993), auxiliando a encontrar o teor de água ideal para o armazenamento de sementes de cada espécie.

As sementes de pau-brasil apresentam comportamento ortodoxo, podendo manter a viabilidade por até 18 meses quando armazenadas a 7°C com cerca de 0,1g H₂O/g MS (Barbedo *et al.* 2002) e 24 meses em temperaturas de congelamento (-5 a -18°C) (Hellmann *et al.* 2006). No entanto, com a diminuição do teor de água para valores próximos a 6% (base úmida), o consumo de O₂ chega a ser aproximadamente 50 vezes maior do que a liberação de CO₂, indicando que podem ocorrer reações oxidativas. Estas podem ser causadas por superóxidos, tais como peroxidação de lipídeos e oxidação de compostos fenólicos (Lamarca 2009).

Provavelmente devido a isso, as sementes de *C. echinata* perdem sua viabilidade em aproximadamente três meses quando armazenadas em condições de laboratório, o que torna sua conservação ainda onerosa devido aos custos de manutenção de temperaturas sub-zero. Sendo assim, o armazenamento destas sementes em temperatura ambiente torna-se uma importante ferramenta de conservação (Chai *et al.* 1998).

Sendo assim, este trabalho teve por objetivo verificar o grau de influência da taxa respiratória e dos processos oxidativos na manutenção dos tecidos da semente durante o armazenamento em temperaturas de ambiente de laboratório (25°C), em baixos teores de água, estabelecendo assim, relações entre teor de água, armazenamento e velocidade de deterioração em sementes de *Caesalpinia. echinata* Lam.

Material e Métodos

Obtenção do Material Vegetal

Sementes de *C. echinata* foram coletadas maduras, após dispersão natural (menos de 24 horas da dispersão) sem ocorrência de chuva nas 24 horas anteriores à colheita, na fazenda Santa Carolina (Jaú / SP) (48°50' W 22°19' S), no ano de 2010. Após chegada no Núcleo de Pesquisa em Sementes do Instituto de Botânica de São Paulo, as sementes foram selecionadas, separando-se sementes rachadas, com sinais de umidade e infestadas por insetos. Após seleção, foram secas até aproximadamente 10% de água (base úmida) em estufa a 40°C e a seguir foram armazenadas em freezer a -18°C (Hellman *et al.* 2006) até o início dos experimentos.

Determinações físicas e fisiológicas

As sementes foram caracterizadas inicialmente, quanto ao teor de água, conteúdo de massa seca, potencial hídrico e germinação. O teor de água foi determinado gravimetricamente, pelo

método da estufa a 103°C, por 17 horas (ISTA 1985), sendo os resultados apresentados em porcentagem, em base úmida (Brasil 2009).

Foram medidos os potenciais hídricos, separadamente, de embriões sem tegumento (embriões excisados) e tegumentos por meio de medidor WP4 (Decagon, Pullmann). O aparelho utiliza a técnica do ponto de orvalho em espelho-resfriado para medir o potencial hídrico da amostra, esta é acondicionada em uma câmara interna ao aparelho até que entre em equilíbrio higroscópico com o ar circundante, a partir disso um espelho mede o nível de condensação da água presente no ar. A temperatura do espelho é precisamente controlada por um cooler termoelétrico que gradativamente a reduz até que se detectem diferenças no índice de reflexão do espelho, resultado da condensação de água, a partir disso um sensor registra a temperatura na qual a condensação ocorreu, obtendo assim o ponto de orvalho da amostra e calculando seu potencial hídrico, expressado em -MPa.

Os testes de germinação foram realizados em salas de germinação reguladas para 25°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) e 90% ($\pm 5\%$) de umidade relativa, em rolos de papel como recomendado por Mello e Barbedo (2007). As avaliações foram realizadas a cada três dias durante 15 dias, considerando-se como germinadas as sementes que emitiram raiz primária com no mínimo 1cm e como plântulas normais aquelas com sistema radicular desenvolvido e com abertura do primeiro par de folhas visível (Barbedo *et al.* 2002). Além disso foi calculado o índice de velocidade de germinação (IVG), conforme a fórmula de Maguire (1962):

$$\text{IVG} = N_1/D_1 + N_2/D_2 + \dots + N_n/D_n, \text{ onde:}$$

N_1 = número de sementes germinadas, no primeiro dia de contagem;

D_1 = número de dias transcorridos, desde a instalação do teste até o primeiro dia da contagem;

N_2 = número de sementes germinadas, entre o primeiro e o segundo dias de contagem;

D_2 = número de dias transcorridos, desde a instalação do teste até o segundo dia de contagem;

N_n = número de sementes germinadas, entre o penúltimo e o último dias de contagem;

D_n = número de dias transcorridos, desde a instalação do teste até o último dia de contagem

A qualidade fisiológica das sementes foi analisada, também, pelo teste de tetrazólio, segundo a metodologia descrita por Lamarca *et al.* (2009). As sementes foram pré-condicionadas em água por 2 horas a 25°C, a seguir foram removidos os tegumentos, em seguida as sementes foram incubadas em solução de tetrazólio a 0,05 % por duas horas a 35°C, na ausência de luz. A seguir as sementes foram lavadas em água corrente, avaliadas e classificadas de acordo com categorias de coloração rosa suave representando tecido saudável, vermelho intenso representando tecidos em deterioração e cor natural do tecido para tecido morto (França Neto 1994; Delouche *et al.* 1976) considerando-se 8 classes de deterioração (Lamarca 2009). Além disso, foram calculadas também segundo Lamarca (2009) as estimativas de distribuição de frequência de tecidos viáveis das sementes deteriorados e mortos das sementes.

Para avaliação da condutividade elétrica, embriões excisados foram acondicionados em recipientes plásticos e embebidos em 75 ml de água deionizada, onde permaneceram por 5, 10, 15 e 30 minutos, 1, 3, 6, 9 e 24 horas. Após cada período de permanência, os valores de condutividade elétrica, foram medidos por meio de condutivímetro de bancada para soluções aquosas modelo Marconi CA150, com medidor tipo caneta e faixa de leitura de 0 a 20.000 μS , sendo os resultados expressos em $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$.

As taxas respiratórias foram avaliadas acondicionando-se as sementes em ambiente hermético por 40 dias. Após esse período a concentração de O_2 e CO_2 do frasco foi medida por meio de aparelho ILL6600 (Illinois, Pullman, EUA). A medição de O_2 realizada pelo equipamento, é realizada por sensor potenciométrico, com eletrólito sólido cerâmico na forma de tubo a base de óxido de zircônio (ZrO_2), onde interna e externamente são depositados dois eletrodos.

A zircônia possui a habilidade de conduzir íons de oxigênio em temperaturas superiores a 650°C. A medida é dada mediante a diferença de potencial da pressão parcial do oxigênio entre os

dois eletrodos (Steil *et al.* 2002, Caproni 2007). O sensor de dióxido de carbono é um infravermelho, baseando-se na absorção, pelo CO₂, de radiação no espectro do vermelho.

Os valores, expressos em porcentagem de O₂ e CO₂ presentes no ar, foram convertidos em $\mu\text{mol.gMS}^{-1}.\text{d}^{-1}$ utilizando-se como base a equação de Clapeyron, sendo os valores obtidos somados, divididos pela massa seca total da amostra de sementes e pelo número de dias em que as sementes permaneceram nas embalagens (Lamarca 2009).

Secagem com controle de umidade relativa do ar

Foram determinados 5 níveis de secagem por meio de soluções salinas saturadas, sendo: Nitrato de zinco (Zn(NO₃)₂), Cloreto de cálcio (CaCl₂), Brometo de cálcio (CaBr₂) e Cloreto de zinco (ZnCl₂) além de sílica-gel azul em pérolas que não foi misturada a água. As soluções salinas foram obtidas a partir da mistura de água deionizada com o pretendido sal, que foi sendo adicionado à solução até a formação do precipitado (Vertucci & Roos 1993).

Após obtenção das soluções, estas foram acondicionadas em frascos herméticos, juntamente com as sementes, onde permaneceram durante 15 dias. Após abertura as sementes foram novamente caracterizadas segundo as análises citadas anteriormente, sendo imediatamente armazenadas em frasco hermético as sementes utilizadas para a medição do consumo de O₂ e CO₂, e medidos o teor de água, conteúdo de matéria seca e potencial hídrico. As sementes utilizadas para os testes de germinação, tetrazólio e condutividade elétrica foram incubadas em atmosfera controlada a 90% de umidade relativa durante 24 horas, para que reequilibrassem seu teor de água, evitando assim, danos por embebição (Ellis *et al.* 1985).

Armazenamento após incubação em frascos com atmosfera controlada em ambiente permissível a passagem da luz

O restante das sementes foi imediatamente acondicionado em frascos herméticos e armazenadas durante 30 e 60 dias com temperatura controlada a 25°C e 12 horas de fotoperíodo. Ao término de cada período, as sementes foram analisadas quanto a sua capacidade germinativa,

potencial hídrico, teor de água e taxa de deterioração pelos métodos de taxa respiratória e teste de tetrazólio.

Armazenamento sem incubação prévia, em ambiente permissível ou não a passagem de Luz

Sementes de *C. echinata* com teor de água aproximado de 14% (base úmida) sem incubação em atmosfera controlada por meio de soluções salinas saturadas, foram divididas em dois grupos e armazenadas durante 20, 40 e 60 dias com temperatura controlada a 25°C, sendo um grupo armazenado em ambiente hermético permissível a passagem de luz (fotoperíodo de 12 horas) e outro grupo em ambiente não permissível a passagem de luz. Ao término de cada período as sementes foram avaliadas quanto sua capacidade germinativa e taxas respiratórias de acordo com as metodologias citadas anteriormente.

Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental empregado foi o inteiramente casualizado, com 4 repetições em esquema fatorial 5 x 3 (secagem x armazenamento) ou 5 x 3 x 2 (secagem x armazenamento x presença de tegumento). Os dados obtidos para teor de água e potencial hídrico (sendo estes sempre considerados em módulo), consumo de O₂, produção de CO₂, condutividade elétrica, germinação, produção de plântulas normais e IVG foram submetidos a análise de variância (teste F) ao nível de 5% de probabilidade. As médias foram comparadas entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% (Santana & Ranal 2004).

Resultados e Discussão

As umidade relativas nas quais as sementes foram submetidas variaram de 50% (Zn(NO₃)₂), 35% (CaCl₂), 25% (CaBr₂) e 5% (ZnCl₂). A umidade relativa do ar controlado pelas pérolas de sílica-gel aproxima-se de zero, impossibilitando assim, a aferição pelo higrômetro. Devido a esses baixos valores de umidade relativa, as pérolas de sílica-gel promovem uma secagem constante das

sementes, não sendo possível observar neste caso, equilíbrio higroscópico. No entanto, considerando-se o período de 15 dias de duração da secagem, foram obtidos valores intermediários entre os sais CaBr_2 e ZnCl_2 (tabela 1).

Tabela 1. Teor de água de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. submetidas a secagem em soluções salinas e armazenadas por 30 e 60 dias. Médias seguidas pela mesma letra (minúsculas nas linhas maiúsculas nas colunas) não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5%

Período de Armazenamento	Sais					Médias
	$\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$	CaCl_2	CaBr_2	Sílica-gel	ZnCl_2	
0 dias	9,95	6,98	6,19	5,62	4,78	6,70 B
30 dias	11,84	7,42	6,75	5,77	5,06	7,37 A
60 dias	12,40	7,26	6,50	5,51	6,08	7,55 A
Médias	11,40 a	7,22 b	6,48 bc	5,63 cd	5,30 d	
Coef Var.	11,98%					

Análise de variância dos dados de teor de água não indicou interação significativa entre os níveis, secagem e armazenamento (tabela 1) No entanto, houve interação entre o potencial hídrico, tanto do embrião sem o tegumento, quanto apenas do tegumento (figura 1), o que reforça a idéia de que o potencial hídrico indica resultados mais confiáveis em estudos de tolerância a dessecação (Vertucci e Roos 1990).

Após os períodos de permanência nas atmosferas controladas, as sementes apresentaram valores de potencial hídrico que variaram de -61,5 a -227,4 MPa entre os embriões, que corresponderam a 9,9% a 4,7% de água (figura 1, tabela 1). Os potenciais hídricos se alteraram após os períodos de armazenamento sendo observadas inclusive, diferenças entre o potencial hídrico do tegumento quando comparados aos embriões (figura 1).

As primeiras fases de embebição da semente são puramente físicas, sendo controladas em sua maioria pelo potencial matricial (Ψ_c) e osmótico (Ψ_π) (Bewley e Black, 1994), sendo que a

água penetra primeiramente nos tecidos mais externos da semente como tegumentos e cotilédone, indo em direção aos tecidos internos como o eixo embrionário (Terskikh *et al.* 2005). Sendo assim, pequenas alterações na disponibilidade hídrica do ambiente, causadas por mudanças na temperatura, umidade relativa, ou mesmo a manipulação das sementes após a retirada dos frascos contendo as soluções salinas saturadas, podem alterar os valores de potencial hídrico das mesmas, sendo que estas alterações serão mais proeminentes quanto maiores forem as forças de atração à água, promovidas pela semente no decorrer da secagem (Sun 2002).

As sementes submetidas à secagem em sílica-gel e solução de ZnCl_2 apresentaram diferenças significativas entre o potencial hídrico do tegumento e do embrião, tendo o embrião apresentado valores mais negativos aos do tegumento logo após a secagem, e apresentando valores menos negativos aos do embrião após os períodos de armazenamento (Figura 1 E e F). Esta alteração pode estar ligada a rachaduras no tegumento de sementes de *C. echinata*, normalmente encontradas em sementes submetidas a secagem severa (dados não publicados), como o realizado por meio das pérolas de sílica-gel e da solução de ZnCl_2 , e assim, poderiam expor o embrião as condições externas.

Comumente o tegumento apresenta potencial hídrico mais negativo em relação ao potencial hídrico do embrião (Figura 1 B; Capítulo 2), essa variação poderia estar associada a ativação de mecanismos de defesa, visando evitar danos por embebição aos cotilédones durante a reidratação, tornando o tegumento mais suscetível a entrada brusca de água nos primeiros momentos da embebição, diminuindo assim, a velocidade de entrada da água para os tecidos internos da semente.

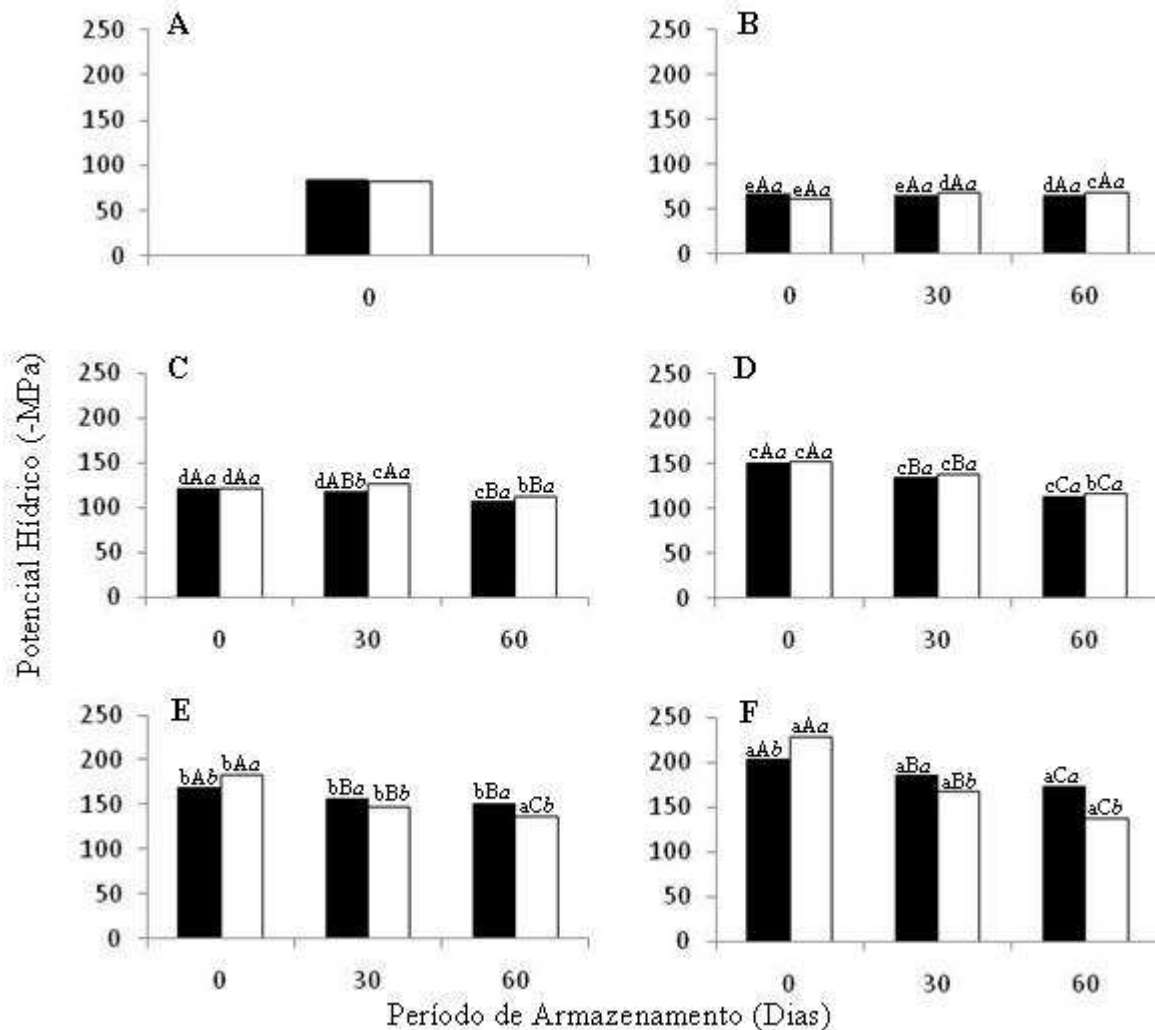


Figura 1. Potencial hídrico (-MPa) de Tegumento (Colunas pretas) e Embriões (Colunas brancas) de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. submetidas a secagem em ambiente hermético por 15 dias com atmosfera controlada por soluções salinas saturadas de $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ (B), CaCl_2 (C), CaBr_2 (D), ZnCl_2 (F) e por perolas de sílica –gel (E) e armazenadas por 0, 30 e 60 dias. (A) Amostra controle. Médias seguidas da mesma letra (minúsculas para secagem, maiúsculas para períodos de armazenamento e itálicas para tegumento e embrião) diferem entre si pelo teste de tukey, a 5%.

O tegumento possui importante papel na proteção tanto do embrião quanto de estresses bióticos e abióticos durante o armazenamento (Rajjou e Debeaujon 2008), participando de mecanismos como a dormência (Bewley e Black 1994; Bewley 1997), proteção dos tecidos da semente contra danos por embebição nos primeiros momentos da germinação (Duke e Kakefuda

1981) e ainda pode atuar na degradação de polissacarídeos de reserva, como galactomananos (Tonini *et al.* 2006), que também podem desempenhar outras funções, como controle da embebição de água nos estágios iniciais da germinação.

Puderam ser observadas diferenças entre as taxas iniciais de germinação, e as taxas obtidas após a secagem. No entanto, quando os testes de secagem foram comparados entre si (Figura 2 B,C,E e F), com exceção das sementes submetidas a secagem em CaBr_2 (Figura 2 D), não foram observadas diferenças entre as taxas de germinação, indicando que estas podem ser atribuídas ao período de 15 dias de duração dos testes de secagem e não a diminuição do teor de água das sementes. Sendo assim, as sementes de *C. echinata* podem ser consideradas como tolerantes a dessecação, conforme descrito por Barbedo *et al.* (2002), suportando inclusive, condições de ultra-secagem, descrita como sendo abaixo de 5% de teor de água (base úmida) (Li *et al.* 2008) (Figura 2).

Após a secagem, as sementes ainda apresentavam capacidade de produção de plântulas normais, o que sugere que, inicialmente, a secagem não provocou efeitos deletérios no vigor das sementes. Portanto, as diferenças entre os valores de produção de plântulas normais, e os valores obtidos antes dos testes de secagem (Figura 2A), poderiam ser atribuídos ao período de permanência das sementes nos frascos herméticos, durante os processos de secagem. Ellis *et al.* (2006) também não obtiveram diferenças imediatas na germinação em sementes de *Trifolium pratense* L. e *Medicago sativa*. No entanto, durante o armazenamento em temperaturas de 30°C, as sementes apresentaram quedas na capacidade germinativa, mesmo em baixos teores de água.

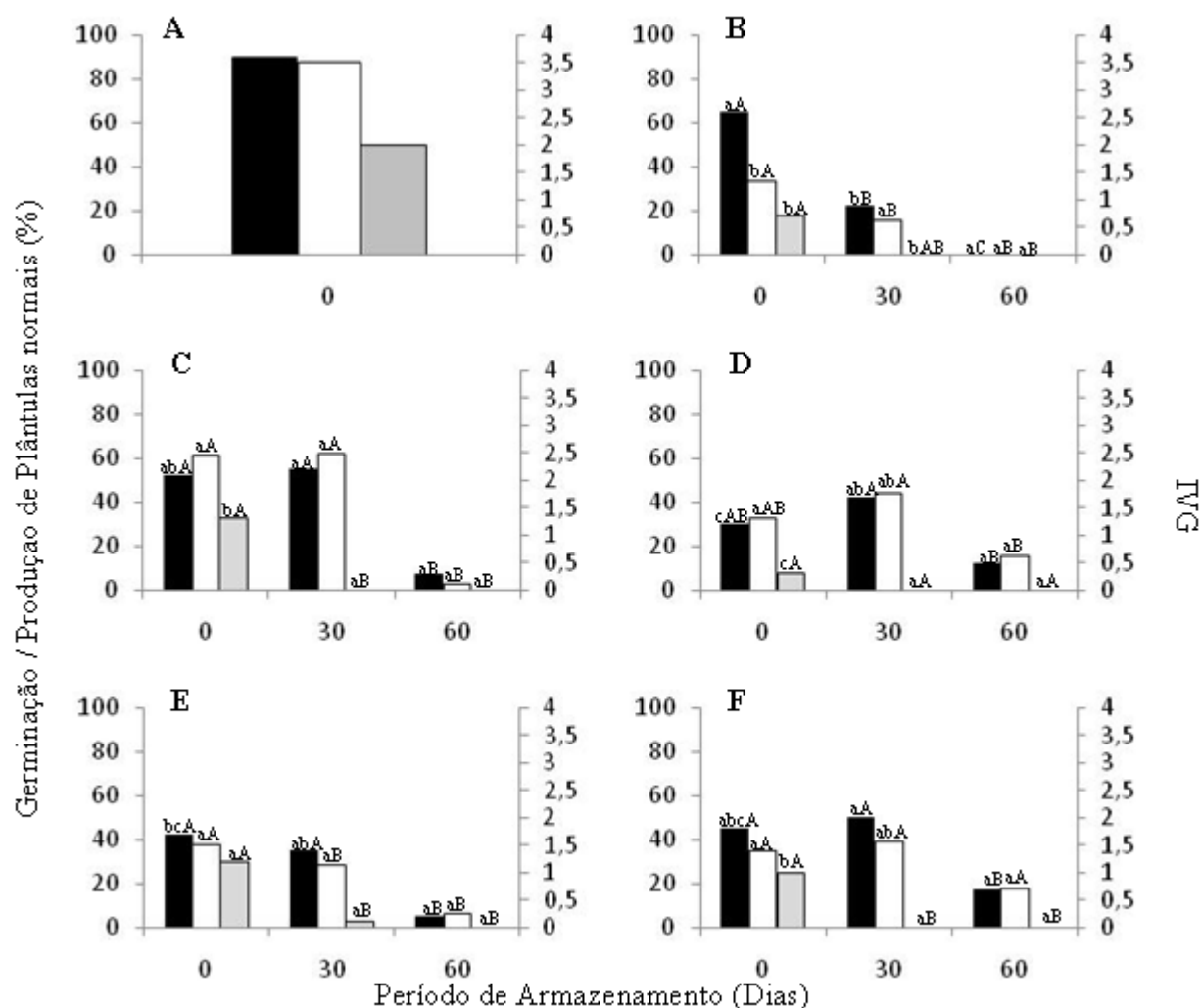


Figura 2. Germinação (colunas pretas), IVG (colunas brancas) e Produção de plântulas normais (colunas cinzas) de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. submetidas a secagem em ambiente hermético por 15 dias com atmosfera controlada por soluções salinas saturadas de Zn(NO₃)₂ (B), CaCl₂ (C), CaBr₂ (D), ZnCl₂ (F) e por perolas de sílica –gel (E) e armazenadas por 0, 30 e 60 dias. (A) Amostra controle. Médias seguidas da mesma letra (minúsculas para secagem, maiúsculas para períodos de armazenamento) diferem entre si pelo teste de tukey, a 5%.

Após os primeiros 30 dias de armazenamento, as sementes submetidas a secagem em solução de Zn(NO₃)₂ já apresentavam diminuição da capacidade germinativa, enquanto que as sementes submetidas a secagem mais severa (CaCl₂, CaBr₂ e ZnCl₂) (Figura 2 C, E, e F) não apresentaram qualquer alteração após esse período com exceção das sementes submetidas a secagem em CaBr₂ (Figura 2D). No entanto, as sementes submetidas a secagem em CaCl₂, CaBr₂ e

ZnCl já haviam perdido a capacidade de produção de plântulas normais. A perda da capacidade germinativa foi maior após 60 dias de armazenamento chegando a valores nulos em sementes submetidas a maiores teores de água ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$), diminuindo porém nas sementes mais secas, como as submetidas a secagem em ZnCl_2 , que perderam aproximadamente 50% da capacidade germinativa.

Além da quantidade de água, a temperatura possui papel fundamental no potencial de armazenamento de sementes (Walters, 1998; Vertucci e Roos, 1993), isso devido a manutenção do estado vítreo, que é definido como o aumento da viscosidade da água no interior da semente. Este aumento de viscosidade tende a proteger os sistemas de membrana das células durante a fase seca da semente, o aumento da temperatura tende a acelerar as moléculas da água, fazendo com que a viscosidade do interior da semente diminua, gerando aumento das reações deletérias, que são causadas principalmente por espécies reativas de oxigênio (Hendry, 1993). Portanto, quanto maior a temperatura durante o armazenamento, menores teores de água serão necessários para manutenção do estado vítreo (Leopold *et al.*, 1994).

Tanto após a secagem quanto após os períodos de armazenamento, as sementes de *C. echinata* apresentaram intensas taxas de absorção de oxigênio, sendo em alguns casos 12 vezes maior do que a produção de gás carbônico, sugerindo intensas reações oxidativas diferentes da respiração aeróbica, como a peroxidação de lipídios (Marcos Filho 2005) (Figura 3C). No entanto o lote inicial (Figura 3 A) também apresentava intensa absorção de oxigênio, sugerindo novamente que a retirada da água não alterou as taxas respiratórias. Os danos causados pelas reações oxidativas em *C. echinata* podem ser observados na perda na capacidade de produção de plântulas normais após 30 dias de armazenamento, e na porcentagem de germinação após 60 dias (Figura 2). A maior velocidade de deterioração observada nas sementes submetidas a secagem em $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ pode ser atribuída ao teor de água, de 9,9%, considerado como água do tipo 2. Nesses teores de água, as

reações de peroxidação de lípidios , enquanto que os sistemas antioxidativos das sementes ainda não estão totalmente ativados (Marcos Filho, 2005).

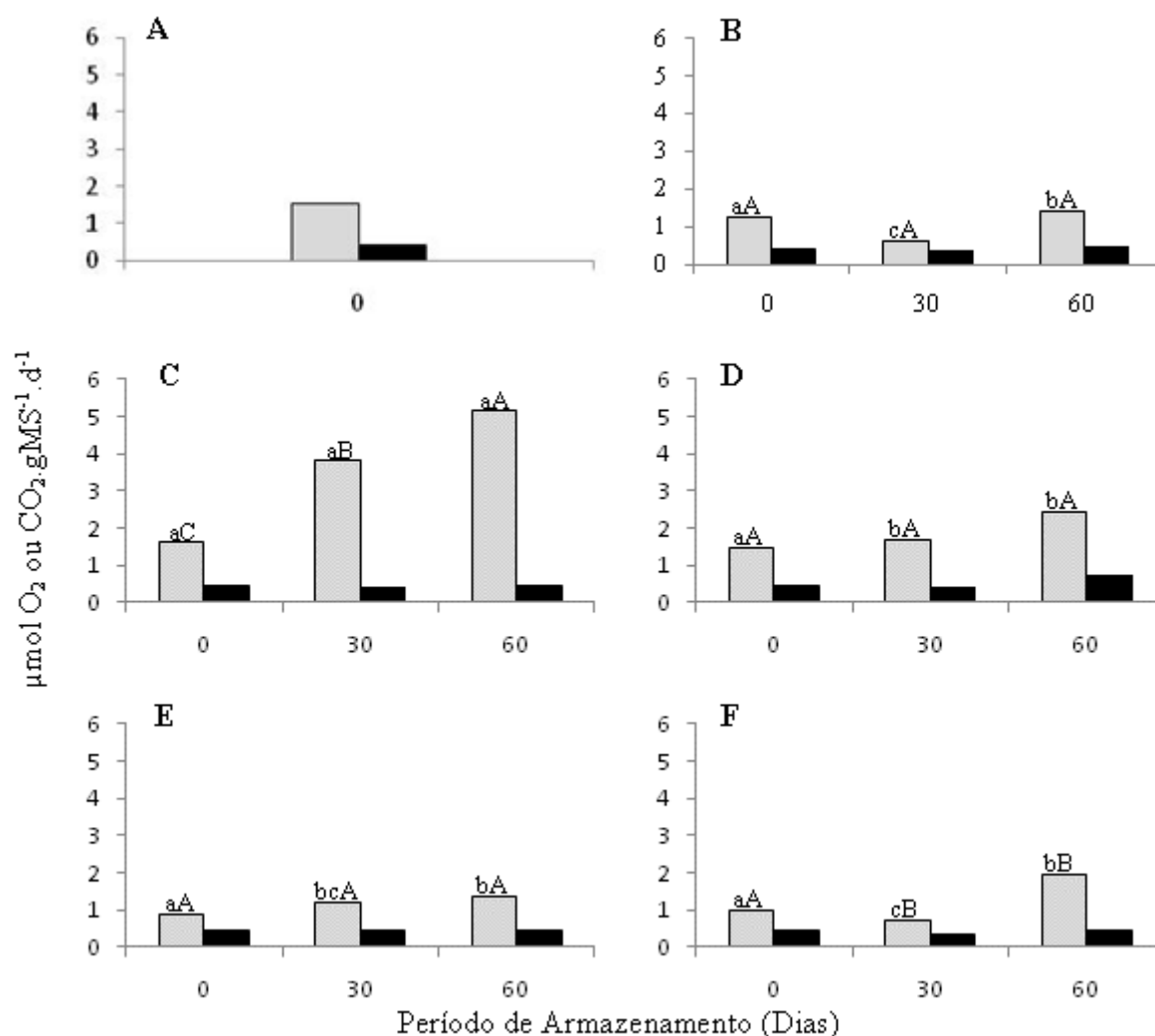


Figura 3. Consumo de O_2 (colunas cinzas), Produção de CO_2 (colunas pretas), de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. submetidas a secagem em ambiente hermético por 15 dias com atmosfera controlada por soluções salinas saturadas de $Zn(NO_3)_2$ (B), $CaCl_2$ (C), $CaBr_2$ (D), $ZnCl_2$ (F) e por perolas de sílica –gel (E) e armazenadas por 0, 30 e 60 dias. (A) Amostra controle. Valores expressos em média diária por grama de massa seca de sementes. Médias seguidas da mesma letra (minúsculas para secagem, maiúsculas para períodos de armazenamento) diferem entre si pelo teste de tukey, a 5%.

O sistema de membranas é um dos primeiros sistemas celulares afetados pela oxidação, a partir da deterioração deste sistema, os processos seguintes podem ser observados por diferenças no

índice de velocidade de germinação, produção de plântulas normais e finalmente diferenças na germinação (Delouche 2002).

O teste de condutividade elétrica, não apontou diferenças satisfatórias entre os níveis de secagem, sendo que algumas poucas diferenças puderam ser observadas entre os períodos de armazenamento (tabela 2). O teste de condutividade elétrica é baseado na quantidade de eletrólitos liberados no meio pelas sementes quando embebidas em água. Sementes com menor vigor, demoram mais tempo para o restabelecimento da integridade das membranas celulares durante a embebição e conseqüentemente liberam maior quantidade de eletrólitos (Marcos Filho 2005). Sendo assim, poderiam ser detectadas diferenças entre os lotes antes mesmo de serem observadas diferenças nos testes de germinação, visto que a degradação do sistema de membranas é um dos primeiros eventos ocorridos no processo de deterioração de sementes (Delouche 2002).

A utilização do teste de condutividade elétrica em sementes de *C. echinata* (capítulo 1), apontou diferenças satisfatórias entre lotes de sementes submetidos ao envelhecimento acelerado. No entanto a metodologia para aplicação deste teste ainda não encontra-se totalmente elucidada necessitando ainda de alguns ajustes para aplicação nestas sementes.

Analisando-se os resultados obtidos a partir da distribuição de freqüências de tecidos viáveis, em deterioração e mortos, apontadas pelo teste de tetrazólio, verificou-se que a quantidade de tecidos viáveis, em deterioração e mortos, não se alterou muito tanto entre os tratamentos de secagem, quanto entre os períodos de secagem (Figura 4). Lamarca (2009) observou que sementes já consideradas inviáveis, ainda apresentavam grande quantidade de tecidos viáveis. A partir disso, sugere-se que a deterioração, ocorre de forma constante, é variável de acordo com o tecido afetado, e esta dinâmica pode ser diferente de acordo com o tipo de estresse no qual a semente é submetida.

Tabela 2. Condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$) de sementes de *C. echinata* Lam. após 5, 10, 15 e 30 minutos, 1, 3, 6, 9 horas de permanência na solução de embebição, submetidas a secagem em soluções salinas saturadas de $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$, CaCl_2 , CaBr_2 , ZnCl_2 e pérolas de sílica-gel, armazenadas por 0, 30 e 60 dias. Médias seguidas pela mesma letra (minúsculas para soluções salinas e maiúsculas para períodos de armazenamento) não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5%

Sais		5 min	10 min	15 min	30 min	1 h	3 h	6 h	9 h	24 h
$\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$	0	16 aA	22 aA	26 aA	45 aA	48 aA	78 aA	142 aAB	188 aA	267 aB
	30	28 aA	39 aA	49 aA	57 aA	79 aB	156 bB	164 aB	219 aB	249 aAB
	60	21 aA	28 aA	34 aA	45 aA	63 abAB	90 abA	121 abA	194 abAB	234 bA
CaCl_2	0	17 aA	21 aA	24 aA	32 aA	50 aA	82 aA	124 aAB	185 aAB	254 aB
	30	20 aA	35 aA	38 aA	46 aA	66 aA	136 abB	147 aB	197 aB	232 aB
	60	16 aA	23 aA	30 aA	38 aA	54 aA	75 aA	103 aA	166 aA	199 aA
CaBr_2	0	12 aA	18 aA	22 aA	35 aA	56 aA	100 abA	121 aA	209 abB	257 aB
	30	22 aA	31 aA	39 aA	47 aA	65 aA	129 abA	136 aA	189 aAB	227 aA
	60	20 aA	31 aA	37 aA	51 aA	67 abA	105 abcA	127 abA	176 abA	215 abA
Sílica-gel	0	16 aA	21 aA	27 aA	39 aA	60 aA	101 abA	153 aA	214 abAB	262 aB
	30	19 aA	25 aA	29 aA	36 aA	56 aA	1069 aA	135 aA	221 aB	227 aA
	60	22 aA	31 aA	39 aA	54 aA	71 abA	114 bcA	140 bA	189 abA	228 abA
ZnCl_2	0	25 aA	35 aA	50 aA	64 aA	99 bB	131 bA	189 bB	232 bA	281 aC
	30	16 aA	23 aA	28 aA	37 aA	55 aA	109 aA	133 aA	209 aA	214 aA
	60	30 aA	40 aA	49 aA	627 aA	91 bB	124 cA	154 bA	206 bA	244 bB

O mesmo fato pode ser observado na comparação dos resultados dos testes de germinação (figura 2) com as taxas respiratórias das sementes (figura 3), onde sementes de lotes que já não apresentavam germinação, ainda possuíam taxas respiratórias. Isso sugere que sementes mantidas com maiores quantidades de água durante o armazenamento parecem ter sofrido danos em locais essenciais ao início do processo germinativo quando comparados a sementes submetidas a menores teores de água.

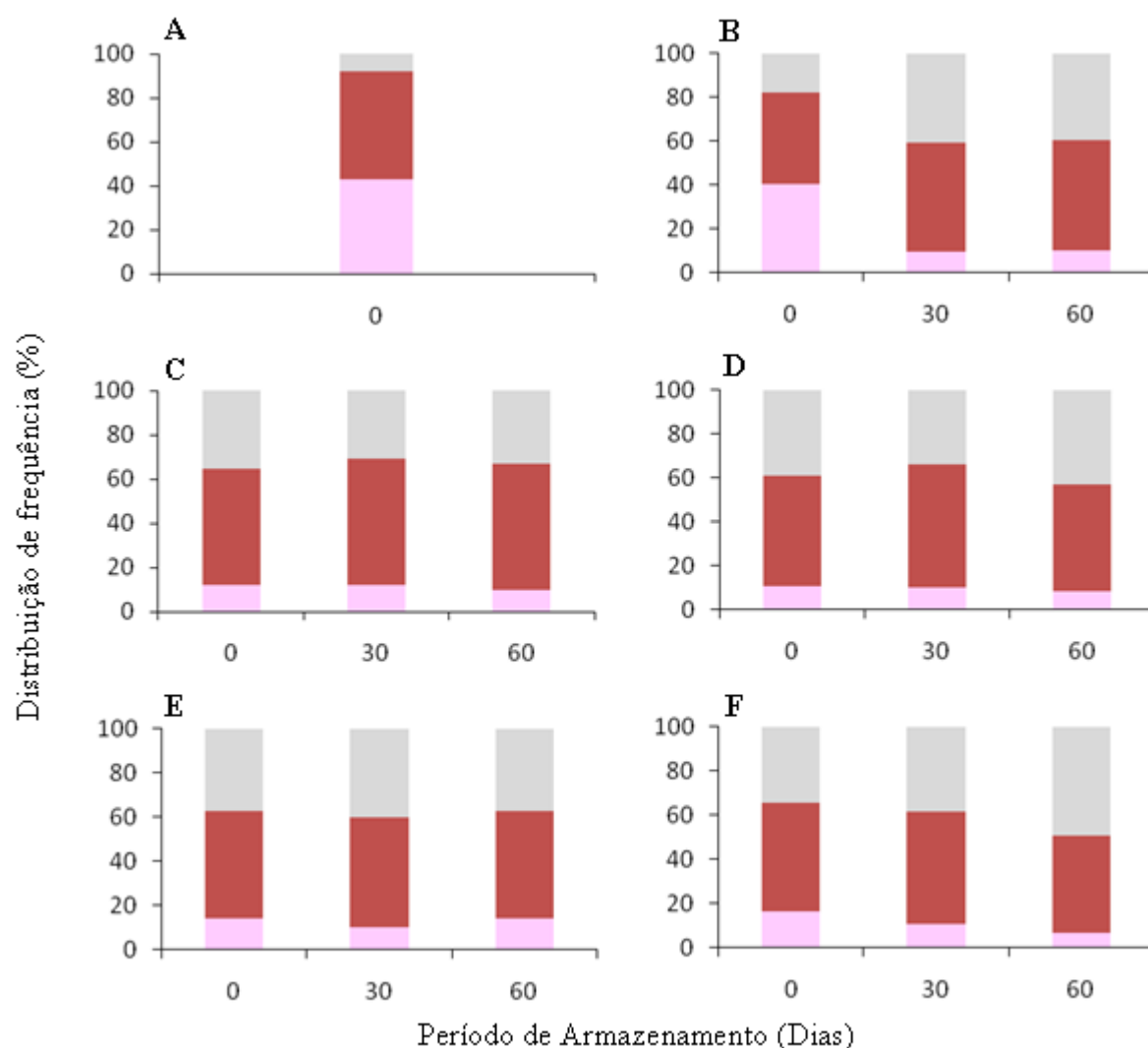


Figura 4. Distribuição de frequências de tecidos viáveis (rosa), deteriorados (vermelho) e mortos (cinza), obtidos no teste de tetrazólio de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. submetidas a secagem em ambiente hermético por 15 dias com atmosfera controlada por soluções salinas saturadas de $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ (B), CaCl_2 (C), CaBr_2 (D), ZnCl_2 (F) e por perlas de sílica -gel (E) e armazenadas por 0, 30 e 60 dias. (A) Amostra controle.

Os testes de tetrazólio permitiram verificar quais tecidos foram afetados, tanto durante o armazenamento, quanto durante a secagem. Observou-se que as sementes submetidas a maior teor de água (sementes submetidas a secagem em solução de $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$), apresentavam logo após o período de secagem, danos na região do eixo-hipocótilo radicular, apresentando no entanto, tecidos viáveis, nas regiões de inserção dos cotilédones ao eixo, e regiões proximais e distais do cotilédone

(figura 5 B e I). Após os primeiros 30 dias de armazenamento, as sementes já apresentavam a grande maioria dos tecidos em estado de deterioração (Figura 5 D), e após 60 dias, danos em toda a região hipocótilo radicular, seguidas pela região de inserção do eixo ao cotilédone, plúmula e região proximal do cotilédone (Figura 5 H), condizendo com os resultados dos testes de germinação (Figura 2 B).

As sementes submetidas a secagem mais severa (CaCl_2 , CaBr_2 , e ZnCl_2) apresentaram deterioração mais lenta dos tecidos, sendo possível observar danos primeiramente nas regiões do procâmbio, seguindo em direção ao meristema fundamental, região de inserção dos cotilédones no eixo, plúmula, região proximal e região distal (Figura 5 I-L). Os danos causados tanto ao meristema fundamental quanto a plúmula, nem sempre inviabilizaram a germinação da semente, no entanto, provavelmente estão relacionados a produção de plântulas anormais (Figura 5 O-P respectivamente). Após 60 dias de armazenamento, no entanto, os danos podiam ser observados em toda a região de inserção do cotilédone ao eixo, sendo possível nesse caso, a associação com as baixas porcentagens de germinação obtidas (Figura 2 C-F, Figura 5 H e L).

As sementes submetidas a secagem em $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ parecem ter sofrido os efeitos da oxidação de forma mais rápida quando comparadas aos outros níveis de secagem, sendo possível atribuir esta maior velocidade a maior quantidade de água presente na semente, os outros tratamentos também foram submetidos as mesmas reações oxidativas, porém, estas ocorreram de forma mais lenta. O que reforça a idéia de que a água controla reações metabólicas na semente, e quanto menor a sua disponibilidade, maior a viscosidade e menores as reações citoplasmáticas (Leopold 1994).

No entanto, a diminuição do teor de água parece não ter tido relação com as altas taxas oxidativas em sementes de *C. echinata*, sendo que mesmo com a diminuição da água para valores próximos a 5% (base úmida) as sementes ainda apresentavam reações oxidativas semelhantes em todos os tratamentos, o que sugere outra causa para a produção de espécies reativas se oxigênio.

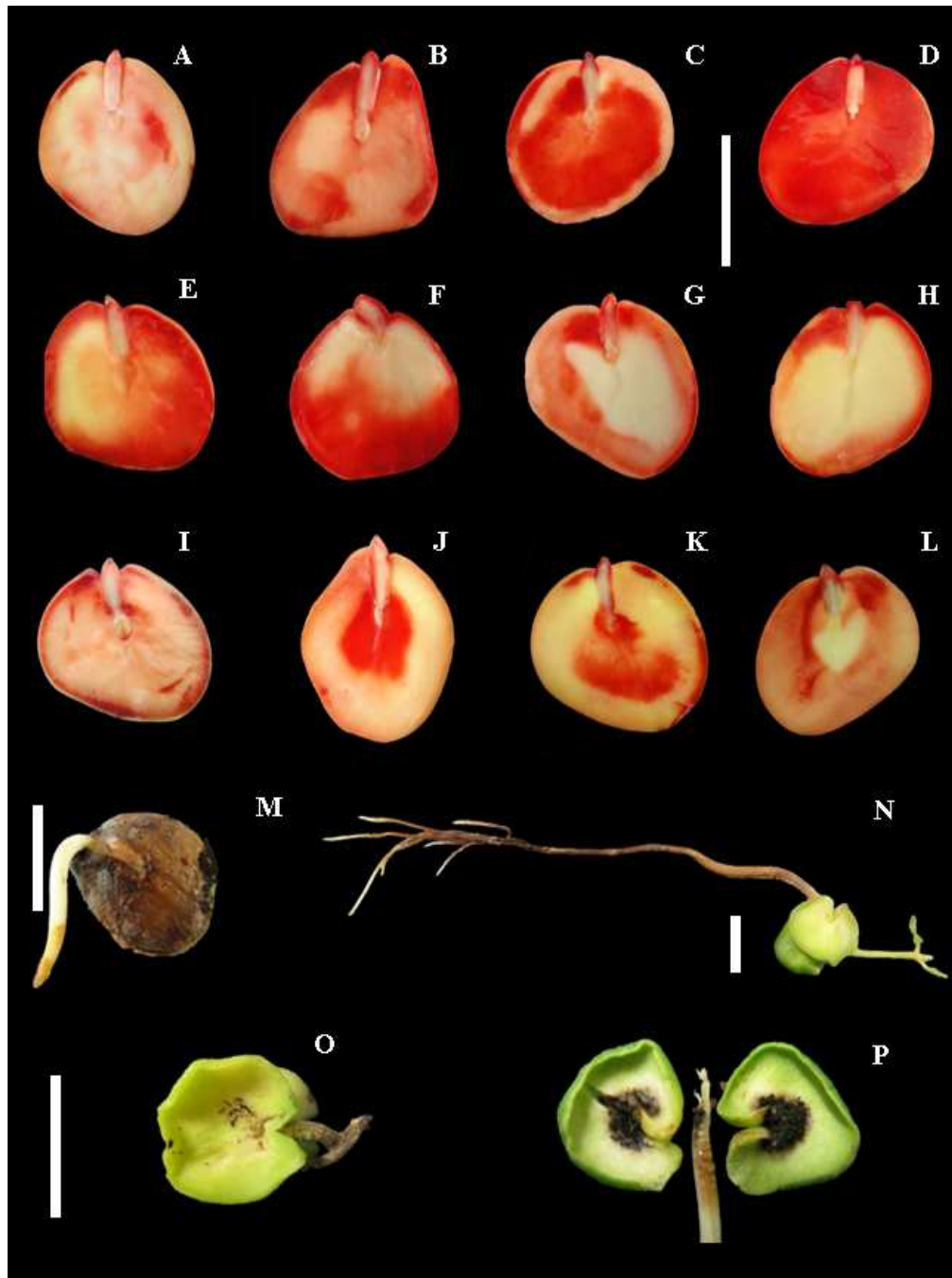


Figura 5. Estado de deterioração de sementes de *C. echinata* representado pelo teste de tetrazólio (A - L) e pelo teste de germinação (M - P) submetidas a secagem em ambiente hermético por 15 dias com atmosfera controlada por soluções salinas saturadas de $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$, CaCl_2 , CaBr_2 , ZnCl_2 e por perolas de sílica - gel e armazenadas por 0, 30 e 60 dias. A - H, gradiente de deterioração indicado pela mudança de coloração dos tecidos variando entre rosa suave, vermelho intenso e cor natural. Tecidos em deterioração na região distal do cotilédone (B), tecidos em deterioração em toda a região proximal do cotilédone (C) tecidos em deterioração em todo o cotilédone e tecidos mortos na região de insero dos cotilédones ao eixo (D), tecidos mortos na região proximal do cotilédone (E e F) tecidos mortos em toda região proximal do cotilédone (G e H), I - L, regiões embrionárias afetadas com mais frequência; Tecidos mortos na região de insero do eixo ao cotilédone (I), tecidos mortos na região distal do cotilédone (J e K) tecidos mortos na região proximal do cotilédone (L). M - protrusão de raiz primária; N - Desenvolvimento de plântula normal; O e P - Desenvolvimento de plântula anormal. Escala 1cm.

Ellis *et al.* (2006) citam que a remoção da água fracamente ligada às moléculas da semente é benéfica para o armazenamento a longo prazo, no entanto, a retirada acima desse limite pode causar efeitos deletérios a semente. No entanto, mesmo chegando a valores baixos de teor de água (aproximadamente 2%, em base úmida) em sementes de *Trifolium pratense* L. e *Medicago sativa*, o armazenamento destas sementes foi mais satisfatório em temperaturas baixas, como -20°C, o que indica que mesmo definindo o limite ótimo de teor de água para o armazenamento, a diminuição da temperatura deve ser considerada.

Esses dados são reforçados comparando-se as secagens mais severas (CaCl₂, CaBr₂, e ZnCl₂), que apresentaram taxas semelhantes de deterioração durante o armazenamento, sugerindo que a partir de um determinado ponto de diminuição do teor de água, as taxas de deterioração foram semelhantes e o teor de água ótimo para o armazenamento de sementes de *C. echinata* encontrava-se em torno de 7% de teor de água (base úmida), podendo ser diminuído até aproximadamente 5%.

A partir das relações de equilíbrio entre teor de água e potencial hídrico, com a umidade relativa de equilíbrio a 25°C, construiu-se a isoterma de sorção de água de sementes de *C. echinata* (Figura 6). São observáveis no gráfico, as três fases normalmente descritas para isotermas de sorção em sementes (Sun 2002), compreendendo a região III, relacionada a água acumulada em multicamadas, em sítios de sorção, representando o equilíbrio entre umidades relativas de 70% a 90% aproximadamente. A região II relacionada a água fracamente ligada, compreendendo as umidade relativas de 60% a 30%, e a região I, relacionada a água fortemente ligada, compreendendo as umidade relativas abaixo de 20%.

Ellis, *et al.* (1989) citam que existem diferenças entre as taxas de longevidade acima e abaixo do limite de retirada de água. Além disso, Ellis *et al.* (2006), expõem que a retirada de água fracamente ligada, associada a região II da isotermas, é benéfica para o armazenamento, porém, a retirada de água fortemente ligada, visível na região I da isoterma, pode gerar efeitos deletérios, na semente.

Em sementes de *C. echinata*, apesar dos ainda baixos períodos de armazenamento obtidos, a influencia da deterioração foi similar entre as sementes submetidas a secagem em CaCl_2 , CaBr_2 , ZnCl_2 em sílica-gel, podendo assim, o potencial hídrico, que variou de -150 a -200 MPa ser considerado promissor para o armazenamento destas sementes. No entanto, a diminuição para valores inferiores a -350 MPa poderia ser danoso para as sementes (Ellis *et al.* 2006).

Sendo assim, a retirada da água não aumentou as taxas de reações deletérias, o que sugere que a secagem não foi o principal fator envolvido na deterioração em *C. echinata*. Além disso, todos os experimentos foram conduzidos a temperatura de 25°C e a diminuição da temperatura ainda pode ser considerada como o principal fator envolvido na conservação da espécie, como observado por Barbedo *et al.* (2002) e Hellmann *et al.* (2006).

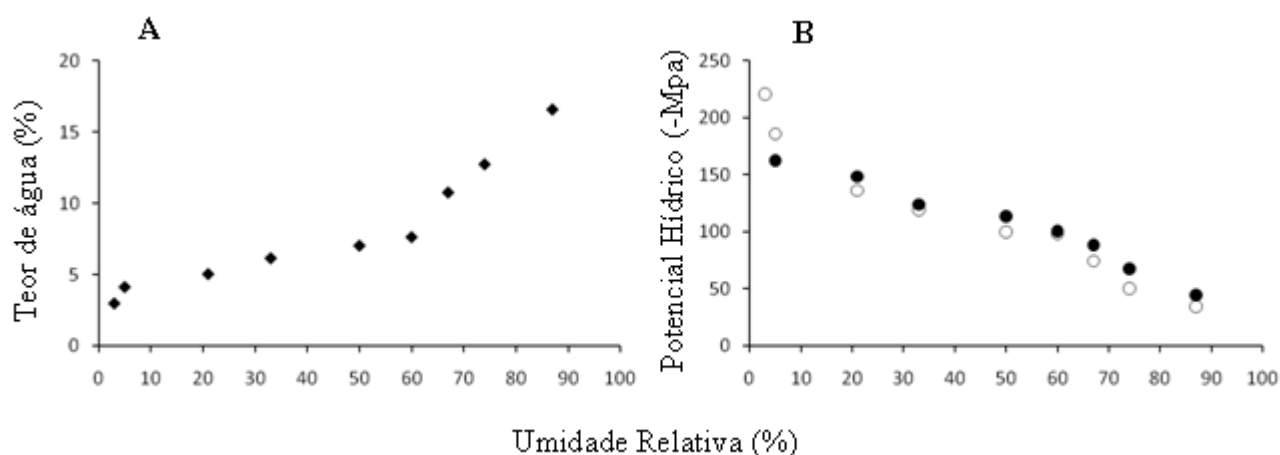


Figura 6. Isoterma de sorção de água baseada em teor de água (A) e potencial hídrico (B) a 25°C de sementes de *C. echinata*.

As sementes armazenadas em ambiente permissível ou não a entrada de luz, apresentaram diminuições drásticas na capacidade germinativa logo após os primeiros 20 dias de armazenamento, quando comparadas com as taxas germinativas iniciais, além disso, após esse período, as sementes já haviam perdido a capacidade de produção de plântulas normais (Figura 2 A, Figura 6 C e D).

As sementes foram armazenadas com aproximadamente 14% de água (base úmida), sendo esperado que a perda da capacidade germinativa ocorresse mais rapidamente quando comparadas as

sementes submetidas a secagem, já a perda na capacidade de produção de plântulas normais foi similar entre as sementes dos dois tratamentos (Figura 2 C, D, E e F ; Figura 7 C e D).

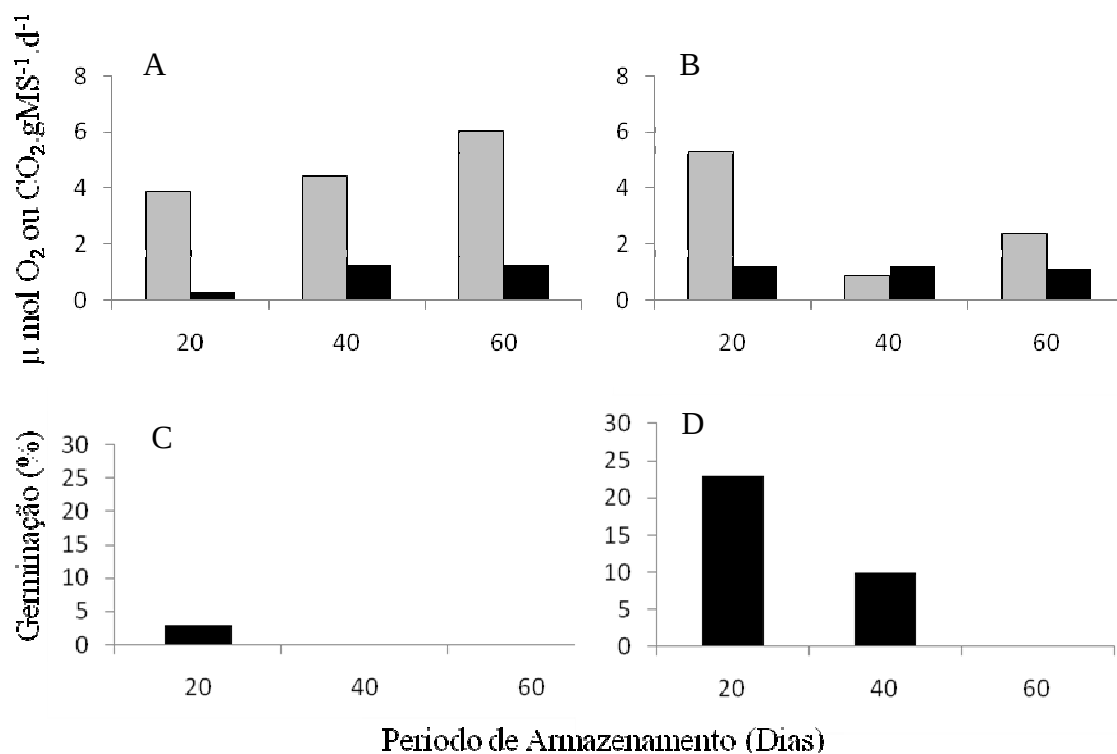


Figura 7. Consumo de O_2 (colunas Cinzas), Produção de CO_2 (A e B) (colunas pretas) e Germinação (C e D) de sementes de *C.echinata* Lam. armazenadas em durante 20, 40 e 60 dias em ambiente permissível a passagem de luz (A e C) e não permissível a passagem da luz (B e D).

Além disso, puderam ser observadas diferenças nos valores de germinação entre as sementes armazenadas em ambiente permissível ou não a passagem de luz, gerando indícios de que a presença de luz poderia gerar efeitos deletérios em sementes de *C. echinata* (Figura 7 C e D). As taxas respiratórias também foram diferentes entre os dois ambientes, sendo que na presença de luz durante o armazenamento, foram observados aumentos no consumo de O_2 pelas sementes, sugerindo reações de oxidação maiores quando comparadas com as sementes armazenadas no escuro (Figura 7 A e B).

Lamarca (2009) observou aumentos nas taxas respiratórias e consequentemente a deterioração em sementes de *C. echinata* de acordo com o aumento do teor de água das sementes,

no entanto, as altas taxas de absorção de O₂ observadas em *C. echinata* sugerem que reações oxidativas ocorram no interior da semente, e que a presença de luz durante o armazenamento, de alguma forma as intensifica.

Estudos realizados por Roqueiro *et al.* (2010) concluíram que as reações oxidativas causadas principalmente pela fotooxidação, são o principal fator envolvido na perda da viabilidade de sementes de *Salix nigra*, que apesar de apresentarem comportamento ortodoxo, perdem a viabilidade em poucas semanas quando armazenadas em temperatura ambiente.

Sendo assim, os resultados referentes a tolerância a dessecação de sementes de *C. echinata* corroboram com os resultados obtidos por Hellman *et al.* (2006) ao armazenar as sementes de *C. echinata* com aproximadamente 10% de teor de água (base úmida) e sugerir que teores de água inferiores a este, como os de 3% a 7%, normalmente utilizados em bancos de germoplasma, poderiam aumentar ainda mais a longevidade das sementes na temperatura de -18°C.

Finalmente, sementes de *C. echinata* ainda apresentam baixo período de longevidade em temperatura ambiente, no entanto, estas sementes suportam teores de água abaixo de 5% (base úmida), possivelmente permitindo que seu armazenamento seja realizado em temperaturas superiores a -18°C, podendo assim, a manutenção de bancos de germoplasma da espécie ser menos onerosa, ou mesmo, aumentando a longevidade da espécie nestas temperaturas.

Além disso, a secagem parece não ter gerado efeitos deletérios em sementes de *C. echinata*, podendo as altas taxas de oxidação obtidas, serem relacionadas a outros eventos, durante o armazenamento, como a presença de luz.

Conclusões

- Sementes de *C. echinata* suportam secagem até teores de água de 4,6% (base úmida);
- No entanto, estas sementes ainda apresentam baixa viabilidade em temperatura ambiente;
- A rápida deterioração de sementes de *C. echinata* pode ser atribuída as intensas taxas absorção de oxigênio que podem ser causadas devido a fotooxidação.

Referências Bibliográficas

- ALVES, E.S., ANGYALLOSSY V., AMANO E. 2008a. A Madeira e a casca de árvore de pau-brasil. In: Pau-brasil da semente à madeira: conhecer para conservar. (FIGUEIREDO-RIBEIRO R.C.L., BARBEDO C.J., ALVES E.S., DOMINGOS M., BRAGA M.R.). São Paulo, Instituto de Botânica/SMA. p. 133-145.
- ALVES, E.S.; LONGUI, E.L.; AMANO, E. 2008b. Pernambuco Wood (*Caesalpinia echinata*) use in the manufacture of bows for string instruments. IAWA journal, vol 29 (3), 2008: 323-335.
- BARBEDO, C.J.; MARCOS-FILHO, J. 1998. Tolerância a dessecação em sementes. Acta Bot. Bras., 12:145-164.
- BARBEDO C.J., BILIA, D.A.C. & FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. 2002. Tolerância à dessecação e armazenamento de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil), espécie da Mata Atlântica. Revista Brasileira de Botânica, 25:431-439.
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. 1994. Seed physiology of development and germination. 2.ed. Plenum Press, London.
- BOTANIC GARDENS CONSERVATION INTERNATIONAL. 2001. Normas internacionais de conservação para jardins botânicos. Rio de Janeiro: Conselho Nacional do Meio Ambiente/Rede Brasileira de Jardins Botânicos / Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro / EMC.
- BRASIL. 2009. Regras para análise de sementes . Brasília, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento,
- BUITINK, J. HOEKSTRA, F.A., LEPRINCE, O. 2002. Biochemistry and Biophysics of Tolerance Systems. In. Dessication and Survival in Plants, Drying without dying. (BLACK M. E PRITCHARD, H.W.) CABI publishing p. 293-311.
- CAPRONI, E. 2007. Eletrólitos sólidos cerâmicos a base de oxido de zircônio para a detecção de oxigênio. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.
- CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. 2000. Sementes: ciência, tecnologia e produção. 4.ed. Jaboticabal, Funep, 588p.
- CASTRO, R.D., BRADFORD, K.J., HILHORST, H.W.M. 2004. Desenvolvimento de sementes e conteúdo de água. In: Germinação: do básico ao aplicado (FERREIRA A.G., BORGHETTI, F.) Porto Alegre: Artmed, 2004.
- CHAI, J., RONGYIN M., LINGZHI L., YIYING D. 1998. Optimum moisture contents of seeds stored at ambient temperatures. Seed Science Research, 8:23-28

- DELOUCHE, J.C., BHERING, M.C. & LIENHARD, M. 1976. O teste de tetrazolio para viabilidade da semente. Agiplan, Brasilia.
- DELOUCHE, J.C. 2002. Germinação, deterioração e vigor de sementes da semente. Seed News 6:1-7.
- DUKE, S.H.; KAKEFUDA, G. 1981. Role of testa in preventing cellular rupture during imbibitions of legume seeds. Plant Physiol. 67:449-456.
- ELLIS, R.H.; HONG, T.D.; ROBERTS, E.H. 1985. Handbook for seed technology for genebanks. Volume 1. Principles and methodology. Rome: International Board for Plant Genetic Resources.
- ELLIS, R.H.; HONG, T.D.; ROBERTS, E.H. 1989. A comparison of the low-moisture-content limit to the logarithmic relation between seed moisture content and longevity in twelve species. Annals of botany 63:601-611.
- ELLIS, R.H.; HONG, T.D. 2006. Temperature Sensivity of the Low-moisture-content Limit to Negative Seed Longevity-Moisture Content Relationships in Hermetic Storage. Annals of Botany 97: 785-791
- FIGUEIREDO-RIBEIRO R.C.L., BARBEDO C.J., ALVES E.S., DOMINGOS M., BRAGA M.R. 2008. Pau-brasil da semente à madeira: conhecer para conservar. Instituto de Botânica/SMA, 184p.
- FRANÇA NETO, J.B. 1994. O teste de tetrazólio em sementes de soja. In Testes de vigor em sementes. (VIEIRA, R.D. E CARVALHO, N.M.). Funep, Jaboticabal. p. 87-102.
- HELLMANN, M.E., MELLO, J.I.O., FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. & BARBEDO, C.J. 2006. Tolerância ao congelamento de sementes de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) influenciada pelo teor de água. Revista Brasileira de Botânica, 29:91-99.
- HENDRY, G.A.F. 1993. Oxygen, free radical processes and seed longevity. Seed Science Research, 3:141-153.
- ISTA. 1985. International rules for seed testing. Seed Science and Technology 13: 356-513.
- KERMODE, A.R. & BEWLEY, J.D. 1985. The role of maturation drying in the transition from seed development to germination. II. Acquisition of desiccation-tolerance and germinability during development of *Ricinus communis* L. Seeds, Journal of Experimental Botany 36:1906-1915.
- KERMODE, A.R. 1990. Regulatory mechanisms involved in the transition from seed development to germination. Critical Reviews in Plant Sciences 9:155-195.

- LAMARCA, E.V. 2009. Taxas respiratórias e velocidade de deterioração de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. em função de variações hídricas e térmicas. Dissertação de mestrado. Instituto de Botânica. São Paulo.
- LAMARCA, E.V.; LEDUC, S.N.M.; BARBEDO, C.J. 2009. Viabilidade e Vigor de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil – Leguminosae) pelo teste de tetrazólio. Revista brasileira de Botânica, 32:793-803.
- LEOPOLD, A.C.; SUN, W.Q.; BERNAL-LUGO I. 1994. The glassy state in seeds: analysis and function. Seed Science research. 4:267-274.
- LI, Y.; QU, J.J.; DONG, Z.; WANG, T.; AN, L. 2008. Storage behavior of *Zygophyllum xanthoxylon* (BGe.) Maxim Seeds at low Moisture Contents. Acta Physiol Plant. 30:651-656.
- MAGUIRE J.D. 1962. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigour. Crop Science 2:176:177.
- MARCOS FILHO, J. 2005. Fisiologia de sementes de plantas cultivadas. Piracicaba, Fealq, 495p.
- MELLO, J.I.O.; BARBEDO, C.J. 2007. Temperatura, luz e substrato para a germinação de sementes de pau-brasil *Caesalpinia echinata* Lam., Leguminosae-Caesalpinoideae. Revista Árvore 31:645-655.
- MELLO, J.I.; BARBEDO, C.J., SALATINO, A.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. 2010. Reserve Carbohydrates and Lipids from the Seeds of Four Tropical Tree Species with Different Sensivity to Dessication. Brazilian Archives of Biology and Technology. V. 53: 889-899..
- NAGARAJAN S., PANDITA V.K., JOSHI, D.K., SINSHA, J.P., MODI, B.S. 2005. Characterization of water status in primed seeds of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) by sorption properties and NMR relaxation times. Seed Science Research, 15:99-111.
- PILATTI, F.K.; AGUIAR, T.; SIMÕES, T.; BENSON, E.E.; VIANA, A.M. 2011. In vitro nad cryogenic preservation of plant biodiversity in Brazil. In Vitro Cell. Dev. Biol. – Plant 47:92-98
- POPINIGIS, F. 1985. Fisiologia de sementes. Brasília: s.n, 289p.
- PROBERT, R.; ADAMS, J.; CONEYBEER J.; CRAWFORD, A.; HAY, F. 2007. Seed quality for conservation is critically affected by pre-storage factors. 55:326-335.
- RAJJOU, L.; DEBEAUJON, I. 2008. Seed longevity: Survival and maintenance of high germination ability of dry seeds. C.R. Biologies 331:796-805.
- ROCHA, Y.T. 2004. Ibirapitanga: Historia, distribuição geográfica e conservação do pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam., Leguminosae) do descobrimento a atualidade. Tese de doutorado, Universidade de São Paulo. São Paulo.

- ROCHA, Y.T.; PRESOTTO, A.; CAVALHEIRO, F. 2007. The representation of *Caesalpinia echinata* (Brazilwood) in Sixteenth-and-seventeenth-Century Maps. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. 79:751-765
- ROCHA, Y.T. 2010. Distribuição geográfica e época de florescimento do Pau-Brasil (*Caesalpinia echinata* LAM. – Leguminosae). *Revista do Departamento de Geografia da Universidade de São Paulo*. 20:23-36
- ROQUEIRO, G.; FACORRO, G.B.; HUARTE, M.G.; CELIS, E.R.; GARCIA, F.; MALDONADO, S.; MARODER, H. 2010. Effects of photooxidation on membrane integrity in *Salix nigra* seeds. *Annals of Botany* 105:1027-1034
- STEIL, M.C., FONSECA, F.C., França, Y.V., Rey, J.F.Q., Muccillo, E.N.S. & Muccillo, R. 2002. Montagem, calibração e testes de um sistema de medidas elétricas em função da temperatura e da pressão parcial de oxigênio. *Cerâmica* 48:146-152.
- SANTANA, D.G & RANAL, M.A. 2004. Análise da germinação: um enfoque estatístico. Brasília, Ed. Universidade de Brasília 248p.
- SUN, W.Q. Methods for the study of water relations under dessication stress. In: Dessication and survival in plants Drying without Dying. (BLACK M. E PRITCHARD, H.W.) CABI publishing p. 48-84.
- SUN, W.Q.; LIANG, Y. 2001. Discrete levels of desiccation sensitivity in various seeds as determined by the equilibrium dehydration method. *Seed Science Research* 11:317-323.
- TERSKIKH, V.V.; FEURTADO, J.A.; REN, C.; ABRAMS, S.R.; KERMODE, A.R. 2005. Water uptake and oil distribution during imbibitions of seeds of western white pine (*Pinus monticola* Dougl. Ex D. Don) monitored in vivo using magnetic resonance imaging. *Planta* 221:17-27.
- TONINI, P.P.; LISBOA, C.G.S.; SILVA, C.O. MAZZONI-VIVEIROS, S.C.; BUCKERIDGE, M.S. 2007. Testa is involved in the control of storage mobilisation in seeds of *Sesbania virgata* (Cav.) Pers., a tropical legume tree from of the Atlantic Forest. *Trees* 21:13-21
- VERTUCCI, C.W.; ROOS, E.E. 1990. Theoretical basis of protocols for seed storage. *Plant Physiology* 94:1019-1023.
- VERTUCCI, C. W. ; ROOS E. E., 1993. Theoretical basis of protocols for seed storage II. The influence of temperature on optimal moisture levels. *Seed Science Research*, 1993 - 3. 201-213.
- WALTERS, C. 1998. Ultra-dry technology: perspective from the National Seed Storage Laboratory, USA. *Seed Science Research (suplemento)*: 11-14.

Conclusões Gerais

O teste de condutividade elétrica apresenta potencial para diagnóstico de sementes de pau-brasil com diferentes níveis de deterioração e deve ser realizado com embriões excisados. Além disso, a troca da solução de embebição por água pura, após a primeira hora de imersão das sementes, é essencial para o correto diagnóstico do nível de deterioração das sementes. Contudo, o teste ainda necessita ajustes quanto ao momento correto para avaliação da condutividade da solução de embebição dos embriões.

Para a construção de isotermas de sorção de água a partir de soluções salinas saturadas, devem ser observados os períodos necessários para o equilíbrio higroscópico das sementes com o ar, comparando-se o potencial hídrico presente no ar com o apresentado pelas sementes no final do experimento.

Sementes de *C. echinata*, podem ser consideradas como altamente tolerantes à dessecação, suportando teores de água até mesmo abaixo de 5% (base úmida). A rápida deterioração dessas sementes não está, portanto, relacionada à perda de água, mas à intensa taxa de reações oxidativas, principalmente em presença de luz. Portanto, o armazenamento das sementes dessa espécie deve ser realizado em condição de escuro completo, mas a ampliação desse armazenamento por períodos compatíveis com os necessários à formação de bancos de germoplasma, sem a utilização de temperaturas de congelamento, dependerá do desenvolvimento de tecnologia que diminua a velocidade das reações oxidativas.

Referências Bibliográficas

- ABENSPERG-TRAUN, M.. 2009. CITES, sustainable use of wild species and incentive-driven conservation in developing countries, with an emphasis on southern Africa. *Biological Conservation*, v.142, p.948-963, 2009.
- AGUIAR, F.F.A. & BARBOSA, J.M. 1985. Estudo de conservação e longevidade de sementes de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.). *Ecossistema* 10:145-50.
- ALPERT, P.; OLIVER, M.J. 2002. Drying without dying. In: Dessication and survival in plants Drying without Dying. (BLACK M. E PRITCHARD, H.W.) CABI publishing p. 48-84.
- ALVES, E.S., ANGYALLOSSY V., AMANO E. 2008a. A Madeira e a casca de árvore de pau-brasil. In: Pau-brasil da semente à madeira: conhecer para conservar. (FIGUEIREDO-RIBEIRO R.C.L., BARBEDO C.J., ALVES E.S., DOMINGOS M., BRAGA M.R.). São Paulo, Instituto de Botânica/SMA. p. 133-145.
- ALVES, E.S.; LONGUI, E.L.; AMANO, E. 2008b. Pernambuco Wood (*Caesalpinia echinata*) use in the manufacture of bows for string instruments. *IAWA journal*, vol 29 (3), 2008: 323-335.
- ARAÚJO, M.S.; CRUZ-SILVA, I. 2008. Compostos bioativos de sementes de pau-brasil. In: Pau-brasil da semente à madeira: conhecer para conservar. (FIGUEIREDO-RIBEIRO R.C.L., BARBEDO C.J., ALVES E.S., DOMINGOS M., BRAGA M.R.). São Paulo, Instituto de Botânica/SMA. p. 133-145.
- BARBEDO C.J., BILIA, D.A.C. & FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. 2002. Tolerância à dessecação e armazenamento de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil), espécie da Mata Atlântica. *Revista Brasileira de Botânica*, v.25, p.431-439.
- BOTANIC GARDENS CONSERVATION INTERNATIONAL. 2001. Normas internacionais de conservação para jardins botânicos. Rio de Janeiro: Conselho Nacional do Meio Ambiente/Rede Brasileira de Jardins Botânicos / Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro / EMC.

- BROWN, K. 2001. Patience yields secrets of seed longevity, *Science* 291:1884–1885.
- CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. 2000. Sementes: ciência, tecnologia e produção. 4.ed. Jaboticabal, Funep, 588p.
- CHAI, J., RONGYIN M., LINGZHI L., YIYING D. 1998. Optimum moisture contents of seeds stored at ambient temperatures. *Seed Science Research*, 8, n.1, 23-28
- ELLIS, R.H.; HONG, T.D. 2006. Temperature Sensivity of the Low-moisture-content Limit to Negative Seed Longevity-Moisture Content Relationships in Hermetic Storage. *Annals of botany* 97: 785-791
- FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA E INPE (INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS ESPECIAIS). 2001. Atlas dos remanescentes florestais da Mata Atlântica e ecossistemas associados no período de 1995–2000. Fundação SOS Mata Atlântica e INPE, São Paulo.
- HELLMANN, M.E., MELLO, J.I.O., FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. & BARBEDO, C.J. 2006. Tolerância ao congelamento de sementes de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) influenciada pelo teor de água. *Revista Brasileira de Botânica*, v.29, p.91-99.
- LAMARCA, E.V. 2009. Taxas respiratórias e velocidade de deterioração de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. em função de variações hídricas e térmicas. Dissertação de mestrado. Instituto de Botânica. São Paulo.
- LONGUI, E.L.; LOMBARDI, D.R.; ALVES, E.S. 2010. Potential brazilian wood species for bows of string instruments. *Holzforschung*, v.64, p.511–520.
- MARCOS FILHO, J. 2005. Fisiologia de sementes de plantas cultivadas. Piracicaba, Fealq, 495p.
- PILATTI, F.K.; AGUIAR, T.; SIMÕES, T.; BENSON, E.E.; VIANA, A.M. 2011. In vitro nad cryogenic preservation of plant biodiversity in Brazil. *In Vitro Cell. Dev. Biol. – Plant* 47:92-98
- POPINIGIS, F. 1985. Fisiologia de sementes. Brasília: s.n, 289p.

- ROCHA, Y.T.; PRESOTTO, A.; CAVALHEIRO, F. 2007. The representation of *Caesalpinia echinata* (Brazilwood) in Sixteenth-and-seventeenth-Century Maps. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. 79(4): 751-765
- ROCHA, Y.T.; BARBEDO, A.S.C. 2008. Pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam., Leguminosae) na arborização urbana de São Paulo (SP), Rio de Janeiro (RJ) e Recife (PE). *Revista da Sociedade Brasileira de Arborização Urbana*, v.3, p.58-77, 2008.
- ROCHA, Y.T.; SIMABUKURO, E.A. 2008. Estratégias de conservação *in situ* e *ex situ* do pau-brasil. In: Pau-brasil da semente à madeira: conhecer para conservar. (FIGUEIREDO-RIBEIRO R.C.L., BARBEDO C.J., ALVES E.S., DOMINGOS M., BRAGA M.R.). São Paulo, Instituto de Botânica/SMA. p. 133-145.
- ROCHA, Y.T. 2010. Distribuição geográfica e época de florescimento do Pau-Brasil (*Caesalpinia echinata* LAM. – Leguminosae). *Revista do Departamento de Geografia da Universidade de São Paulo*. 20:23-36
- SALLON, S; SOLOEW E.; COHEN, Y.; KORCHINSKY R.; EGLI M.; WOODHATCH, I.. SIMCHONI, O.; KISLEV, M. 2008. Germination, genetics, and growth of an ancient date seed, *Science* 320: 1464.

Resumo – O armazenamento de sementes é uma das principais estratégias de conservação *ex situ*, no entanto, nem todas as sementes podem ser facilmente armazenáveis devido a diferentes mecanismos de deterioração envolvidos, controlados em sua maioria pela quantidade de água na semente. Este trabalho teve por objetivo, avaliar as relações entre teor de água e potencial de armazenamento em temperatura ambiente em sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. buscando avaliar os primeiros efeitos causados pela deterioração em diferentes teores de água, armazenadas em diferentes temperaturas, desenvolvendo para isso a metodologia para o teste de condutividade elétrica, e utilização de soluções salinas saturadas. Os resultados demonstram que o teste de condutividade elétrica foi capaz de separar lotes em diferentes estádios de deterioração, no entanto, este ainda necessita de ajustes metodológicos. As soluções salinas podem ser usadas com sucesso na obtenção de isotermas de sorção de água, no entanto devem ser observados o potencial hídrico expresso pelas sementes e o do ar em seu entorno. Sementes de *C. echinata* são tolerantes a dessecação e possuem potencial para armazenamento em temperatura ambiente, desde que controladas as altas taxas oxidativas, provavelmente causadas pela presença de luz.

Palavras-chave: armazenamento, isotermas de sorção de água, soluções salinas saturadas, condutividade elétrica, *Caesalpinia echinata* Lam., pau-brasil

Abstract – Storing seeds is one of most important *ex situ* conservation strategies, however, not all seeds can be easily storable because of the different damaging mechanisms involved, controlled mostly by the amount of water in the seed. This study aimed to evaluate the relationship between water content and storing potential at room temperature in seeds of *Caesalpinia echinata* Lam. evaluating the early effects caused by the deterioration in different water contents stored at different temperatures, for this, developing the methodology of electrical conductivity test, and the use of saturated salt solutions. The results show that the electrical conductivity test was able to separate seeds at different stages of deterioration, however, this still requires methodological adjustments. Saturated salt solutions can be successfully used in obtaining water sorption isotherms, however, the water potential expressed by the seed and the air around it must be observed. *Caesalpinia echinata* seeds are desiccation tolerant and have potential for storage at room temperature, since high rates controlled oxidative probably caused by the presence of light.

Index terms: storage, water sorption isotherms, saturated salt solutions, electrical conductivity, *Caesalpinia echinata* Lam., pau-brasil